



Aalto-yliopisto
Kemian tekniikan
korkeakoulu

Sin Man Cheung

**KOTIMAISEN ELINTARVIKEPERÄISEN OKSITETRASYKLIINI-
ALTISTUKSEN ARVIOINTI**

Kemian, bio- ja materiaalitekniikan maisteriohjelma
Pääaine: Biotekniikka

Diplomityö, joka on jätetty opinnäytteenä tarkastettavaksi diplomi-insinöörin
tutkintoa varten Espoossa 15.03.2017.

Valvoja

Professori Katrina Nordström

Ohjaaja

Dosentti, FT Johanna Suomi
Eläinlääketieteen tohtori Pirkko Tuominen

Tekijä Sin Man Cheung

Työn nimi Kotimaisen elintarvikeperäisen oksitetrasykliinialtistuksen arviointi

Laitos Biotuotteiden ja biotekniikan laitos

Professuuri Biotekniikka

Professuurikoodi CHEM3022

Työn valvoja Professori Katrina Nordström

Työn ohjaaja(t)/Työn tarkastaja(t) Dosentti, FT Johanna Suomi, ELT Pirkko Tuominen

Päivämäärä 15.03.2017

Sivumäärä 85+5

Kieli Suomi

Tiivistelmä

Tässä diplomityössä suoritetaan elintarvikkeen kemialliseen turvallisuuteen liittyvää riskinarviointia, jossa arvioidaan oksitetrasykliinin (OTC) teoreettista maksimisaantia naudasta ja siasta peräisin olevista elintarvikkeista. Oksitetrasykliinin edullisen hinnan ja helpon saatavuuden takia sitä saatetaan käyttää tuotantoeläinten bakteeri-infektioiden hoidossa. Tetrasykliinien laajakirjoisuuden vuoksi bakteereille kehittyä helposti resistenssi niitä vastaan.

Kirjallisuussosiossa käydään läpi perustietoja tetrasykliineistä, kuten niiden kemiallista rakennetta ja toimintaperiaatetta. Lisäksi tarkastellaan lyhyesti mikrobilääkkeen antotapojen vaikutusta tehokkuuteen sekä tuotantoeläimen kudosten OTC-pitoisuuden mallintamista. Mahdolliset OTC-jäämät liittyvät elintarviketurvallisuuteen, koska ne voivat aiheuttaa kuluttajille terveysvaaran. Nämä jäämät voivat kulkeutua suoraan kuluttajiin elintarvikkeiden välityksellä ja toisaalta, ne voivat myös aiheuttaa epäsuoran uhan mahdollistamalla resistenttien bakteerikantojen kehittymisen. Altistusta OTC-jäämiin voidaan vähentää elintarvikkeiden lämpökäsittelyillä, kuten kypsennyksellä ja pastöroinnilla.

Kokeellisessa osiossa estimoidaan farmakokineettisin mallein OTC-pitoisuutta elävän tuotantoeläimen lihassa ja maksassa. Tuloksista päätellen jäämäpitoisuudet naudan- ja sianlihassa sekä naudanmaksassa ovat mitättömän pieniä lääkityksen varoajan päätyttyä, joten kuluttajille ei pitäisi kohdistua terveysvaaraa kyseisistä elintarvikkeista. Lisäksi OTC-altistusta arvioitiin teoreettisella maksimipäiväsaannilla, jota verrattiin hyväksyttävään päiväsaantiin (30 µg/kg_{bw}).

Teoreettisen maksimipäiväsaannin arvioiden perusteella raakamaitovälitteinen jäämältistus on suurinta tutkittujen elintarvikkeiden joukossa. Tämän selittää raakamaidon suuri kulutus ja se, ettei raakamaitoa lämpökäsitellä. Naudanlihan, -maksan ja maidon sekä sianlihasta valmistettujen makkaroiden ja kinkun välityksellä tapahtuva OTC-altistus oli suhteellisesti suurinta 1–2-vuotiailla. Suhteellisesti suurin sianlihavälitteinen altistuminen kohdistui puolestaan 3–6-vuotiaisiin. Lihatuotteiden välityksellä tapahtuva altistus arvioitiin kuitenkin mitättömän pieneksi.

Avainsanat oksitetrasykliini, riskinarviointi, altistuksen arviointi, resistenssi, nauta, sika, maito

Author Sin Man Cheung		
Title of thesis Exposure assessment of oxytetracycline via Finnish food		
Department Department of Bioproducts and Biosystems		
Professorship Biotechnology		Code of professorship CHEM3022
Thesis supervisor Professor Katrina Nordström		
Thesis advisor(s) / Thesis examiner(s) Title of Docent, PhD Johanna Suomi, PhD DVM Pirkko Tuominen		
Date 15.03.2017	Number of pages 85+5	Language Finnish

Abstract

In this master's thesis risk assessment of chemical food safety is conducted. To be precise, theoretical maximum daily intake of oxytetracycline (OTC) via products from cattle and swine is assessed. Because of its low price and good availability, OTC may be utilised to treat bacterial infections in food producing animals. Unfortunately, due to the broad spectrum function of tetracyclines, it triggers resistance development in bacteria.

In the literature part, basic information of tetracyclines, such as their chemical structure and functionality, is presented. Additionally, the effect of the route of OTC administration on the efficiency and mathematical modelling of OTC concentrations in the animal are briefly reviewed. Possible residues of OTC concern food safety because they may have adverse health effects on consumers both directly via residues in food and indirectly via resistance development in bacteria. Fortunately, OTC exposure can be reduced by heat treatments.

In the research part of the thesis, OTC concentrations in the muscles and liver of food producing animals are estimated with pharmacokinetic models. Judging from the results, OTC concentrations in bovine meat and liver and pork are negligible after withdrawal period. Hence, these food products are unlikely to cause adverse health effect on consumers. Theoretical maximum daily intakes of OTC is also assessed and they are compared with the acceptable daily intake value, 30 µg/kg_{bw}.

Based on the theoretical maximum daily intakes, among all the food products observed the highest exposure occurs via raw milk. This is due to the high consumption and the lack of heat treatment. The exposure to OTC via milk, bovine meat and liver, and pork sausages and ham is relatively highest among toddlers (1–2 year old). As for the relatively highest exposure via pork, it occurs among small children (3–6 year old). In spite of that, the exposure to OTC via meat products was assessed to be negligible.

Keywords oxytetracycline, risk assessment, exposure assessment, resistance, cattle, swine, milk

Esipuhe

Diplomityö liittyy Elintarviketurvallisuusvirasto Eviran riskinarviointiyksikön osuuteen Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät nautatiloilla – vaikutukset ympäristöön ja terveyteen (NAMI) -projektista.

Haluan kiittää Evirasta ohjaajiani Johanna Suomea ja Pirkko Tuomista tarjoamalla minulle mielenkiintoisen diplomityöaiheen. Heidän rohkaisujen ja kehittävien palautteiden saattamina pystyin taistelemaan tieni ulos haasteiden metsästä. Lisäksi kiitokset koko riskinarviointiyksikölle kiehtovista kahvihuonekeskusteluista ja siitä, että otitte minut avosylin vastaan.

Kiitokset Aalto-yliopiston Kemian tekniikan korkeakoulusta valvojalleni professori Katrina Nordströmille tärkeistä neuvoista ja rakentavasta palautteesta. Lopuksi haluan kiittää vielä perhettäni ja ystäviäni, etenkin Blonditiimiä ja Prosepöpötystä, jotka ovat olleet tukenani niin opintojeni aikana kuin vapaa-ajalla. Olette tärkeitä!

Sin Man Cheung

Helsingissä 15.03.2017

Sisällys

1	Johdanto.....	1
	KIRJALLISUUSOSIO.....	3
2	Tetrasykliinit.....	3
2.1	Tetrasykliinien kemiallinen rakenne	4
2.2	Tetrasykliinien toimintaperiaate	6
3	Tetrasykliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä.....	7
3.1	Tetrasykliinilääkkeiden antotapoja	8
3.2	Tetrasykliinimikrobilääkkeiden käyttö Suomessa ja muualla Euroopassa.....	9
3.3	Farmakokinetiikka	13
3.4	Mikrobilääkkeiden maltillinen käyttö eläinlääkinnässä	16
4	Tetrasykliinijäämät elintarvikkeissa	17
4.1	Mikrobilääkejäämiin liittyvä lainsäädäntö Euroopassa.....	18
4.2	Tetrasykliinijäämien terveysvaikutuksia kuluttajaan	22
4.3	Lämpökäsittelyn vaikutus oksitetrasykliinijäämiin.....	27
4.4	Tetrasykliinijäämien analyysimenetelmiä	30
4.4.1	Mikrobiologinen analyysi	31
4.4.2	Kemiallinen analyysi.....	31
5	Tetrasykliiniresistenssi	32
5.1	Tetrasykliiniresistenssin mekanismeja	32
5.2	FINRES-Vet -mikrobilääkeresistenssin seurantaohjelma	33
5.3	<i>E. coli</i> -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssintaso Euroopassa.....	34
6	Elintarvikkeiden kemiallinen riskinarviointi	37

6.1	Vaaran tunnistaminen	39
6.2	Vaaran kuvaaminen	40
6.3	Altistuksen arviointi	40
6.4	Riskin kuvaaminen	42
Kokeellinen osio		43
7	Kokeellisen osion tavoitteet	43
8	Materiaali ja perusaineisto	44
8.1	Sian- ja naudanlihan sekä lehmänmaidon tuotanto ja kulutus Suomessa	45
8.2	Oksitetrasykliinin farmakokinetiikka	52
8.3	Tetrasykliinikäyttö ja -resistenssitilanne Euroopassa	52
9	Tutkimusmenetelmät ja tutkimuksen suoritus	53
9.1	Oksitetrasykliinin farmakokinetiikka sioissa ja naudoissa	54
9.2	Määritysrajan alapuolelle jäävien pitoisuuksien käsittely	58
9.3	Oksitetrasykliinialtistuksen arviointi	58
10	Tulokset ja tulosten tarkastelu	60
10.1	Naudan ja sian OTC-pitoisuus farmakokineettisillä malleilla	60
10.2	Oksitetrasykliinin maksimipäiväsaannin arviointi	65
10.3	Tetrasykliinimyyntin ja -resistenssitilanteen välinen yhteys	73
11	Johtopäätökset	76
Lähteet		79

LIITE 1 Lyhyen aikavälin ruoankäyttö (sika, nauta, maito)

LIITE 2 OTC-altistuksen arvioinnin tulokset (TMDI)

LIITE 3 OTC-altistuksen arvioinnin tulokset (LOD)

Luettelo käytetyistä symboleista ja lyhenteistä

ADI	Hyväksyttävä päiväsaanti, <i>Acceptable daily intake</i>
AUC	Pitoisuuskäyrän alle jäävä pinta-ala, <i>The area under concentration-time curve</i>
C	Pitoisuus, <i>Concentration</i>
Cl	Puhdistuma, <i>Clearance</i>
ECDC	Euroopan tautien ehkäisy- ja -valvontakeskus, <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
EFSA	Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto, <i>European Food Safety Authority</i>
EMA	Euroopan lääkevirasto, <i>European Medicines Agency</i>
FIMEA	Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia, <i>High performance liquid chromatography</i>
iv	Suonensisäinen, <i>Intravenous</i>
im	Lihaksensisäinen, <i>Intramuscular</i>
k_{el}	Eliminaation nopeusvakio, <i>Elimination rate coefficient</i>
LA	Pitkävaikutteinen, <i>Long-acting</i>
MIC	Pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus, <i>Minimum inhibitory concentration</i>
MRL	Jäämien enimmäismäärä, <i>Maximum residue limit</i>
NOAEL	Ei havaittua haittavaikutusta -taso, <i>No observed adverse effect level</i>
OTC	Oksitetrasykliini, <i>Oxytetracycline</i>
PCU	Populaation korjausyksikkö, <i>Population correction unit</i>
t	Aika, <i>Time</i>
$t_{1/2}$	Puoliintumisaika, <i>Half-life</i>
TMDI	Teoreettinen maksimipäiväsaanti, <i>Theoretical maximum daily intake</i>
V_d	Jakautumistilavuus, <i>Apparent volume of distribution</i>

1 Johdanto

Bakteerit voivat aiheuttaa tuotantoeläimille erilaisia sairauksia ja infektioita, joiden hoitoon käytetään mikrobilääkkeitä. Valitettavasti mikrobilääkekäytöllä on myös haittavaikutuksensa, joihin lukeutuvat mahdolliset lääkejäämät elintarvikkeissa ja resistenttien bakteereiden kehittyminen, mikä vaikeuttaa infektioiden hoitoa niin eläimissä kuin ihmisissä. Vaikka kuluttaja ei aina saa lääkejäämistä vaikuttavaa annosta, jäämät ovat ei-toivottuja ja kuluttajat pyrkivät välttämään niitä. Tarpeeksi suurilla annoksilla ne voivat aiheuttaa herkillä kuluttajilla muun muassa allergisen reaktion. Lisäksi mikrobilääkejäämät voivat hankaloittaa elintarvikkeiden tuotantoprosesseja, kuten hidastaa hapanmaitotuotteiden ja juustontuotantoa (Vragović *et al.*, 2011).

Maailmanlaajuinen mikrobilääkeresistenssin esiintyvyys on kasvussa. Euroopassa huolestuttavimmat siasta eristetyt *Escherichia coli* -indikaattoribakteerin moniresistenssin tasot ovat Espanjassa (88,2 %), Ranskassa (49,0 %) ja Unkarissa (46,1 %). Suomessa moniresistenssin esiintyvyys vastaavassa indikaattorissa on 14,0 % (EFSA & ECDC, 2015). Maakohtainen resistenssitilanne riippuu vahvasti mikrobilääkkeiden käyttötavoista. Erittäin tärkeää olisikin käyttää oikeaa lääkettä oikeaan indikaatioon ja välttää turhaa käyttöä (CDDEP, 2015). Eläinten kasvunedistämiseen mikrobilääkkeitä ei olekaan saatu käyttää Euroopan unionissa 1.1.2006 lähtien (EMA, 2015).

Tässä diplomityössä arvioidaan alkutuotannossa käytetyn mikrobilääkkeen mahdollisia vaikutuksia suomalaisiin kuluttajiin. Tarkasteltavaksi mikrobilääkkeeksi valittiin oksitetrasykliini, koska tetrasykliinit kuuluvat vanhimpiin ja tutkituimpiin mikrobilääkkeisiin. Lisäksi niiden edullisen hinnan, helpon saatavuuden ja laajakirjoisuuden takia bakteerit kehittävät nopeasti resistenssin niitä vastaan. Tetrasykliineihin liittyvää resistenssitilannetta

tarkastellaan *E. coli* -bakteerin kautta, koska sitä käytetään resistenssin seurannassa Gram-negatiivisena indikaattorilajina (McEwen, 2012a). Altistusta arvioidaan puolestaan naudasta ja siasta saatavien elintarvikkeiden (lihan, maksan ja maidon sekä sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekonin) välityksellä. Kyseiset tuotantoeläimet valittiin tarkastelun kohteiksi, koska Suomessa kotieläintuotanto painottuu voimakkaasti nautojen ja sikojen kasvatukseen (vuonna 2016: 10 900 nautatilaa, 660 sikatilaa, 371 siipikarjatilaa ja 2130 muuta kotieläintilaa) (Anon., 2017h). Lisäksi naudasta ja siasta saatavia tuotteita kulutetaan Suomessa paljon ja näiden tuotantoeläinten infektioiden hoidossa voidaan käyttää tetrasykliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä.

KIRJALLISUUSOSIO

2 Tetrasykliinit

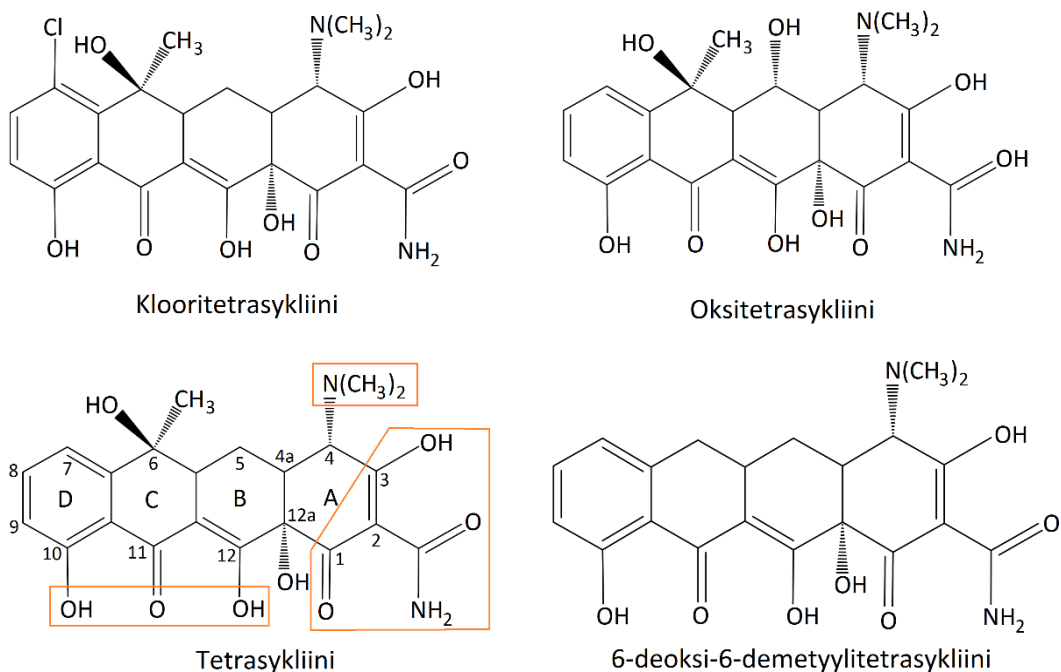
Tetrasykliinit ovat mikrobilääkkeiden ryhmä, jonka toiminta perustuu mikrobien proteiinisynteesin inhibointiin ja siten mikrobien kasvun hidastamiseen. Niiden vaikutus on siis bakteeristaattinen. Laajakirjoisuutensa ansiosta niitä voidaan käyttää sekä Gram-positiivisten että -negatiivisten bakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoon. Tetrasykliiniherkkyttä esiintyy muun muassa myös spirokeetoilla, mykoplasmoilla, riketsioilla, klamydioilla ja eräillä alkueläimillä (Chopra & Roberts, 2001). Laajakirjoisuuden lisäksi tetrasykliinien laaja käyttö johtuu osittain myös niiden edullisesta hinnasta ja helposta saatavuudesta. Tetrasykliinejä käytetään sekä ihmisten että eläinten infektioiden hoitoon (Önal, 2011). Suomessa tetrasykliinivalmisteiden kohde-eläinlajit ovat nauta, sika, lammas, vasikka, minkki, kala, hevonen, kissa, koira ja pienet jyrsijät (Kariaho *et al.*, 2014).

Ensimmäiset tetrasykliinit löydettiin 1940-luvulla. Klooritetrasykliini eristettiin *Streptomyces aureofaciens* -bakteerista ja oksitetrasykliini (OTC) puolestaan *S. rimosus* -bakteerista. Myöhemmin tunnistettiin lisää tetrasykliinejä sekä luonnollisina että puolisynteettisesti tuotettuina (Chopra & Roberts, 2001). Tetrasykliinit ovat kellertäviä ja kiteisiä yhdisteitä, joiden liukoisuus veteen on huono. Lisäksi ne saostuvat helposti jo liuettuaankin. Tetrasykliinien hydrokloridit ovat liukoisuuksiltaan hieman parempia, joten useissa mikrobilääkevalmisteissa tetrasykliinit ovat tässä muodossa. Tetrasykliineillä on taipumusta muodostaa kelaatteja kahden- ja kolmenarvoisten metallien kanssa. Kelaattimuodossa tetrasykliinien imeytyminen diffuusion välityksellä on entistä hitaampaa (Tuominen & Männistö, 2001). Tästä syystä tetrasykliinejä sisältäviä

mikrobilääkkeitä ei saa käyttää kalsiumsuoloja (Ca^{2+}) sisältävien suonensisäisten injektionesteiden kanssa (Kariaho *et al.*, 2014).

2.1 Tetrasykliinien kemiallinen rakenne

Tetrasykliinit muistuttavat kemialliselta rakenteeltaan vahvasti toisiaan. Tetrasykliineillä (esimerkkejä kuvassa 1) on neljä lineaarisesti toisiinsa kiinnittynyttä kuusihiilistä rengasta, jotka on nimetty kirjaimin A, B, C ja D. Kyseisten renkaiden asemissa 5, 6 ja 7 oleviin hiiliin voi sitoutua erilaisia funktionaalisia ryhmiä (Chopra *et al.*, 1992), mikä vaikuttaa molekyylin farmakokinetiikkaan eli mikrobilääkepitoisuuden muutokseen lääkittävän eläimen elimistössä (Wang *et al.*, 2012). Yksinkertaisin antimikrobisesti aktiivinen tetrasykliini on 6-deoksi-6-demetyylitetrasykliini, joka on rakenteeltaan samanlainen kuin tetrasykliini (Chopra & Roberts, 2011), mutta 6-hiilestä on poistettu hydroksidi- ja metyyliiryhmä.

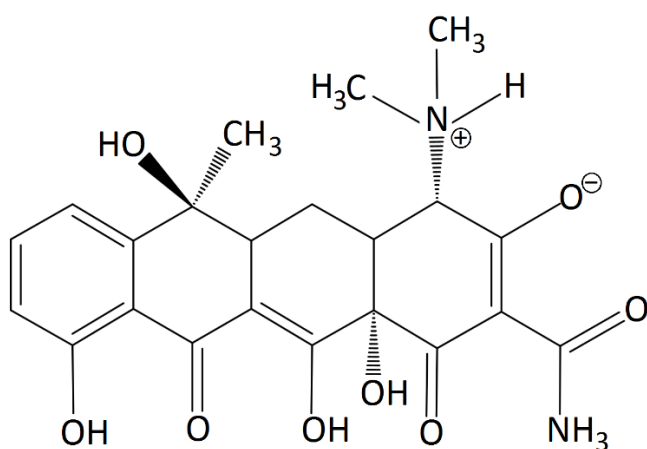


Kuva 1. Esimerkkirakenteita joistakin tetrasykliineistä. Tetrasykliinin oranssilla kehystetyt funktionaaliset ryhmät (samoja kaikille tetrasykliineille) voivat ionisoitua vesiliuoksessa (muokattu: Guerra *et al.*, 2016, Zhang *et al.*, 2014).

Tetrasykliinien molekyyli­rakenteessa on useita tekijöitä, jotka vaikuttavat niiden antimikrobisuuteen. Osa näistä tekijöistä on lueteltu alla (Chopra & Roberts, 2001; Guerra *et al.*, 2016):

1. Neljä lineaarisesti toisiinsa kiinnittynyttä kuusihiilistä rengasta
2. Stereokemiallinen α -konfiguraatio (hiilistä 4a ja 12a) renkaiden A ja B välillä
3. Dimetyyliaminoryhmä neljännessä hiilessä
4. Keto-enoli –rakenteen (asemissa 10, 11 ja 12) säilyminen fenolisen D-renkaan lähetyvillä

Kemiallisen rakenteen lisäksi tetrasykliinien antimikrobisuuteen ja farmakokineettisiin ominaisuuksiin vaikuttaa kyky kelatoitua kahdenarvoisen metalli-ionin kanssa (Chopra & Roberts, 2011). Tetrasykliineissä on kolme funktionaalista ryhmää, jotka voivat ionisoitua (kuva 1). Tästä syystä ne voivat siis muodostaa kationeja, kahtaisioneja (kuva 2) ja anioneja vesiliuoksissa pH:sta riippuen (Zhang *et al.*, 2014). Kelatointi voi tapahtua asemien 1, 2, 3, 4, 10, 11 ja 12 hiiliin kiinnittyneiden funktionaalisten ryhmien kautta (Chopra & Roberts, 2011). On havaittu, että juuri Mg^{2+} -ionin kanssa muodostunut tetrasykliinikompleksi inhiboi bakteereiden toimintaa, joten kelatoituminen on tärkeä ominaisuus tetrasykliinien antimikrobisuuden kannalta. Toisaalta sama kompleksi voi indusoida bakteereissa resistenssin kehittymisen (Guerra *et al.*, 2016).



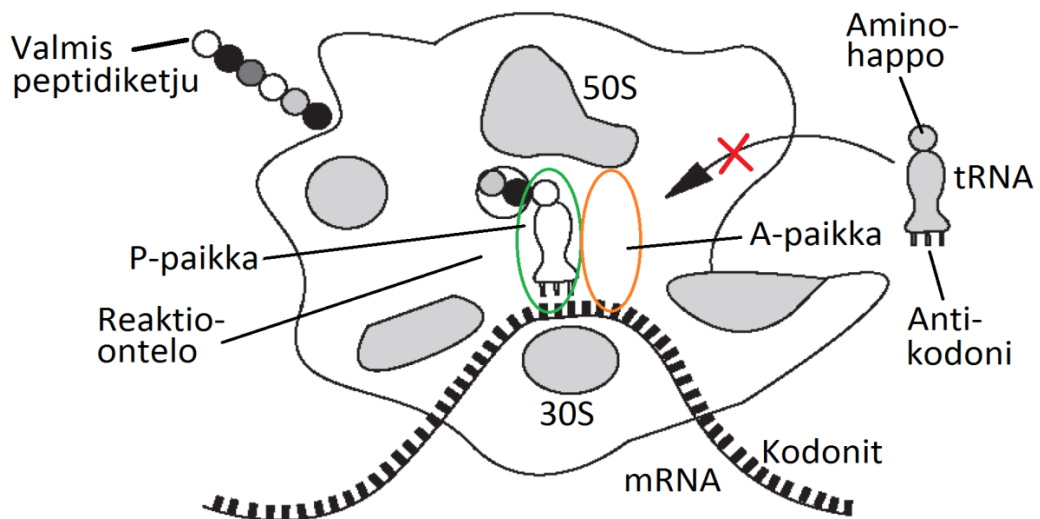
Kuva 2. Tetrasykliini kahtaisionimuodossa (Zhang *et al.*, 2014).

2.2 Tetrasykliinien toimintaperiaate

Ribosomin pinnalla tapahtuva proteiinisynteesi on solulle elintärkeä toiminto. Lähetti-RNA:n (mRNA:n) informaatio muutetaan aminohappojärjestykseksi kolmen peräkkäisen RNA:n emäksen eli kodonin ohjeistamana. mRNA kulkee ribosomin läpi yksi kodoni kerrallaan ja siirtäjä-RNA (tRNA) toimii aminohappospesifisenä informaationlukijana. Ribosomissa on tRNA:lle kaksi paikkaa. Aminohappoa tuodessaan tRNA kiinnittyy ribosomin A-paikkaan (*acceptor site*). Kun mRNA liikkuu yhden kodonin verran eteenpäin, tRNA siirtyy P-paikkaan (*peptidyl-RNA site*) ja irrottaa edellisen tRNA:n (Tuominen & Männistö, 2001).

Jotta tetrasykliinit pystyisivät estämään bakteerien proteiinisynteesiä, niiden on ensin päästävä kohteeseensa eli bakteerien sisällä olevaan ribosomiin. Riippuen siitä, onko bakteeri Gram-positiivinen vai -negatiivinen, tetrasykliinin on läpäistävä joko yksi tai useampi membraani (Chopra & Roberts, 2001). Gram-negatiivisen *Escherichia coli* -bakteerin kohdalla magnesiumiin sitoutunut tetrasykliini kulkeutuu passiivisella diffuusiolla kationiselektiivisen OmpF-poriinin kautta solun sisälle (Chopra *et al.*, 1992).

Itse tetrasykliinien toiminta perustuu niiden kykyyn estää bakteerien proteiinisynteesiä ja siten niiden kasvua. Tetrasykliini kiinnittyy reversiibelisti ribosomin 30S-osaan, mikä estää tRNA:n ja siihen liittyneen aminohapon kiinnittymisen A-paikkaan (kuva 3) (Chopra *et al.*, 1992; Tuominen & Männistö, 2001). Vaikutus on pääsääntöisesti bakteriostaattinen, mutta huomattavan suurina pitoisuuksina tetrasykliineillä voi olla myös bakteriosidisiä eli bakteerin tappavia ominaisuuksia (Kariaho *et al.*, 2014, Wang *et al.*, 2012). Koska tetrasykliineillä on huonompi affiniteetti nisäkkäiden ribosomeihin, niitä voidaan käyttää naudoilla, sioilla ja ihmisillä bakteeritautien hoidossa (Papich & Riviere, 2009).



Kuva 3. Tetrasykliinit estävät tRNA:n kiinnittymisen ribosomin A-paikkaan (muokattu: Tuominen & Männistö, 2001).

3 Tetrasykliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä

Suomessa on myytävänä useita tetrasykliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä, joita käytetään tuotantoeläimillä tetrasykliinille herkkien mikrobien aiheuttamien infektioiden hoitoon. Käyttöaiheita ovat muun muassa hengitystieinfektiot, kohdun tulehdukset sekä ihotulehdukset ja haavat. Oksitetrasykliiniä vaikuttavana aineena olevissa mikrobilääkkeissä se on joko oksitetrasykliinihydrokloridina tai -dihydraattina. Klooritetrasykliini on puolestaan klooritetrasykliinihydrokloridina. Lääkemuodot vaihtelevat suoneen tai lihakseen annettavista injektionesteistä lääkerehun esisekoitteisiin sekä jauheista ja sumutteista voiteisiin. Tetrasykliinejä sisältävien mikrobilääkkeiden ostamiseen tarvitaan eläinlääkärin määräämä resepti. Injektioina ja suun kautta annettavilla mikrobilääkkeillä on varoajat teurastukselle ja maidonkäytölle. Varoajat vaihtelevat tuotteittain, se voi olla esimerkiksi pitkävaikutteisella (LA) oksitetrasykliinilääkkeellä jopa 35 vuorokautta naudan tai 14 vuorokautta sian teurastukselle (Engemycin Vet LA 100 mg/ml, Kariaho *et al.*, 2014). Lääkkeitä säilytetään ruskeissa pakkauksissa, sillä tetrasykliinit ovat herkkiä valolle (Nguyen *et al.*, 2013).

Mikrobilääkkeen tehokkuus riippuu monista eri tekijöistä, kuten infektion aiheuttavan mikrobin lääkeherkkyydestä, lääkkeen antotavasta ja -kohdasta, hoitoajan pituudesta, eläimen yleisilasta sekä siitä, onko eläin ruokittu ennen lääkkeen antamista. Koska tetrasykliinien toiminta on bakteriostaattista, eli se perustuu mikrobikasvun hidastamiseen, myös eläimen oma immuunipuolustus vaikuttaa lääkehoidon onnistumiseen. Tetrasykliinit toimivat parhaiten nopeasti lisääntyviin mikrobeihin (Wang *et al.*, 2012). Mikrobilääkkeeseen liittyviä varoituksia on syytä noudattaa. Jotkut lääkkeet voivat nimittäin vaikuttaa antagonistisesti eli häiritä toisten lääkkeiden toimintaa. Huolellisella mikrobilääkkeiden käytöllä voidaan taata niin sairaan eläimen parantuminen kuin minimoida kuluttajiin kohdistuva terveysvaara liittyen resistentteihin bakteerikantoihin ja lääkejäämiin (Kariaho *et al.*, 2014).

3.1 Tetrasykliinilääkkeiden antotapoja

Mikrobilääkkeen käytössä annoskoko ja antotapa ovat erittäin tärkeitä, jotta lääkeainepitoisuus kohdekudoksessa olisi toivotun suuruinen riittävän kauan. Jos terapeutista tasoa ei saavuteta eli pitoisuus on liian alhainen, mikrobilääke ei tehoa bakteereihin (Telkänranta *et al.*, 2013). Tetrasykliinejä voi antaa eläimelle injektiona, suun kautta, iholle tai utareeseen. Antotavasta riippumatta lääkejäämiä saattaa esiintyä lihassa ja maidossa (Jahed Khaniki, 2007), mikä voi altistaa kuluttajat terveysriskille.

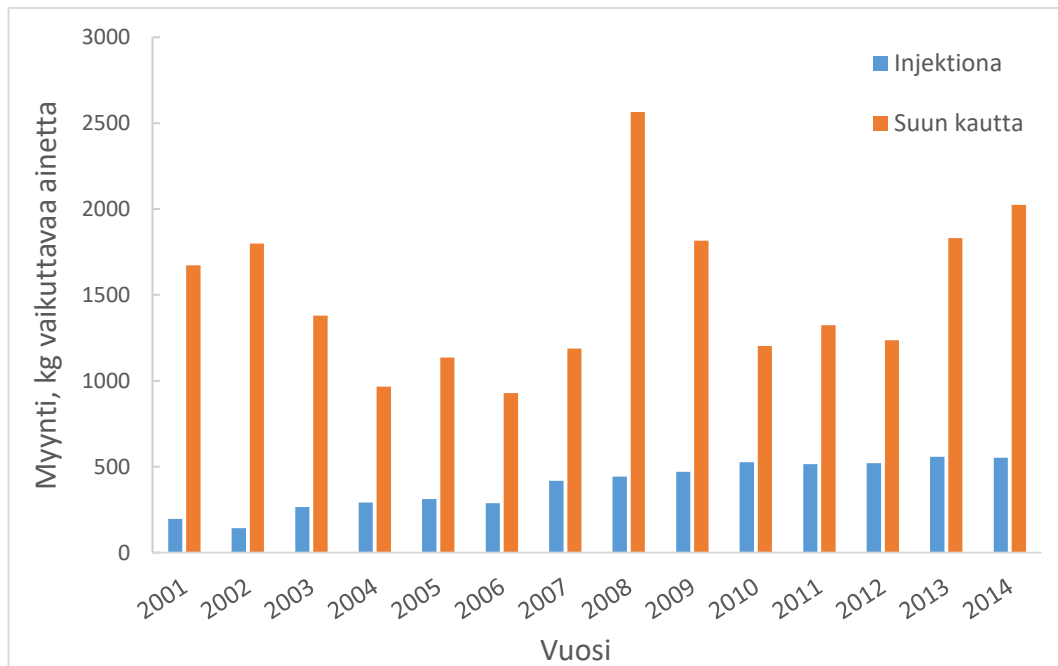
Suonen- ja lihaksensisäiset (iv ja im) injektiot ovat yleisimpiä antoreittejä. Etenkin naudoilla näitä suositaan, sillä suun kautta annettu annos vaikuttaa pötsin mikrobitoimintaan syrjäyttämällä suotuisat bakteerit resistenttien bakteerikantojen tieltä (Huber, 1977). Muutos mikrobistossa hidastaa edelleen ruoansulatusprosesseja (Michalova *et al.*, 2004). Iv-injektio (*intravenous*) eli suonensisäinen antotapa on nopein tapa käynnistää mikrobilääkkeen vaikutus, koska lääkeaine pääsee suoraan verenkiertoon ja sen välityksellä kohdekudokseen. Im-injektiossa (*intramuscular*) eli lihakseen injektioituna,

imeytyminen on hieman hitaampaa, koska lääkeaineen on ensin päästävä verenkierron kuljetettavaksi (Telkänranta *et al.*, 2013; Kivistö & Neuvonen, 2001). Lisäksi im-injektion haittapuolina ovat mahdollinen ärsytysreaktio ja turvotus (Huber, 1977). Toisaalta iv- injeksiollakin on haittapuolensa. Liian nopea annostus voi nimittäin aiheuttaa eläimelle matalaa verenpainetta ja siten saada aikaan shokin (Papich & Riviere, 2009). Eläin voi myös herkistyä auringonvalolle ja harvinaisissa tapauksissa tetrasykliinit voivat aiheuttaa anafylaktisen reaktion (Kariaho *et al.*, 2014).

Suun kautta annettuna tetrasykliinien imeytyminen on heikompaa kuin injektoituina. Tarkkaa syytä tähän ei tiedetä, mutta etenkin ruokituilla eläimillä imeytymisen on havaittu tapahtuvan hitaasti. Mahdollinen syy voi olla tetrasykliinien kelatoituminen ruoka-aineiden kanssa, kuten maitotuotteiden sisältämän kalsiumin kanssa (Papich & Riviere, 2009). Porsaille tetrasykliinejä voidaan antaa myös aerosolina keuhkotulehduksen hoitoon, mutta tätä antotapaa käytetään erittäin vähän (Huber, 1977).

3.2 Tetrasykliinimikrobilääkkeiden käyttö Suomessa ja muualla Euroopassa

Suomessa eläinten hoitamiseen käytettyjen mikrobilääkkeiden kulutusta (kg aktiivista ainetta) seuraa Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus FIMEA. Aineistona käytetään lääketukkujen toimittamia myyntitilastoja, joten todellista lääkekulutusta ei saada selville. Mikrobilääkkeiden vuotuinen kokonaisymyynti on pysynyt 2010-luvulla tasaisena, noin 13 500 kg, pienillä 1–2 %:n muutoksilla. Koska myynti ilmoitetaan lääkkeen painoyksikkönä eikä eläinlajikohtaisesti suhteutettuna eläinten lukumäärään, tilastot eivät sellaisenaan kerro, onko mikrobilääkekulutus lisääntynyt tai vähentynyt. Tetrasykliini- ja doksisykliini-injektoiden myynti on kasvanut määrällisesti vuosina 2001–2014. Suun kautta annettavien valmisteiden myynti on puolestaan ollut vaihtelevaa samalla aikavälillä (kuva 4) (Kivilahti-Mäntylä, 2016).



Kuva 4. Suomessa vuosina 2001–2014 kaikille eläimille tarkoitettujen tetrasykliinien ja doksisykliinien myynti lääketukuista (muokattu: Kivilahti-Mäntylä, 2016).

Euroopan lääkeviraston (EMA:n) tekemässä kuudennessa, tähänhetkisesti uusimmassa, ESVAC-raportissa esitellään 29 Euroopan maan tuotantoeläimille (naudalle, sialle, lampaalle, vuohille, kaloille, jäniksille ja hevosille) käytettyjen mikrobilääkkeiden myyntiä vuonna 2014 (kuva 5). Lääkkeiden myynnissä on otettu huomioon kunkin maan koko eläinpopulaation lisäksi vienti ja tuonti, joten maiden myyntiluvut ovat vertailukelpoisia. Vuotuinen myynti jaetaan PCU-eläinpopulaation korjaustermillä (*population correction unit*), jonka yksikkö on kg. PCU on vain myynnin ja käytön vertailun mahdollistamiseksi määritelty teoreettinen termi. Vuotuinen mikrobilääkemyynti esitetään yksikössä mg aktiivista ainetta per PCU (mg/PCU). Myynnissä on huomioitu kaikki tetrasykliinilääkkeiden käyttömuodot: esisekoitteet, rehuun sekoitettavat jauheet, suun kautta annettavat liuokset sekä injektiot. Suomen vuoden 2014 mikrobilääkkeiden kokonaismyynnistä 22,8 % kattoi tetrasykliinit, mikä vastasi kolmanneksi myydyintä lääkeryhmää. Vuoden 2014 tilastossa mukana olleista maista (n=29) 24 kulutti enemmän tetrasykliinejä kuin Suomi. Kypros (151,12 mg/PCU) ja Espanja (147,42 mg/PCU) olivat kärkikaksikot tetrasykliinien

mg/PCU

0,07

151,51

Ei dataa

Islanti

Norja

Suomi

Viro

Latvia

Liettua

Valko-Venäjä

Venäjä

Ruotsi

Tanska

Ukraina

Puola

Alankomaat

Irlanti

Iso-Britannia

Belgia

Saksa

Luxemburg

Tšekki

Slovakia

Moldova

Ranska

Liechtenstein

Itävalta

Unkari

Romania

Sveitsi

Slovenia

Kroatia

Bosnia ja Hertsa

Montenegro

Bulgaria

Turkki

Kypros

Albania

Makedonia

Kreikka

Italia

Andorra

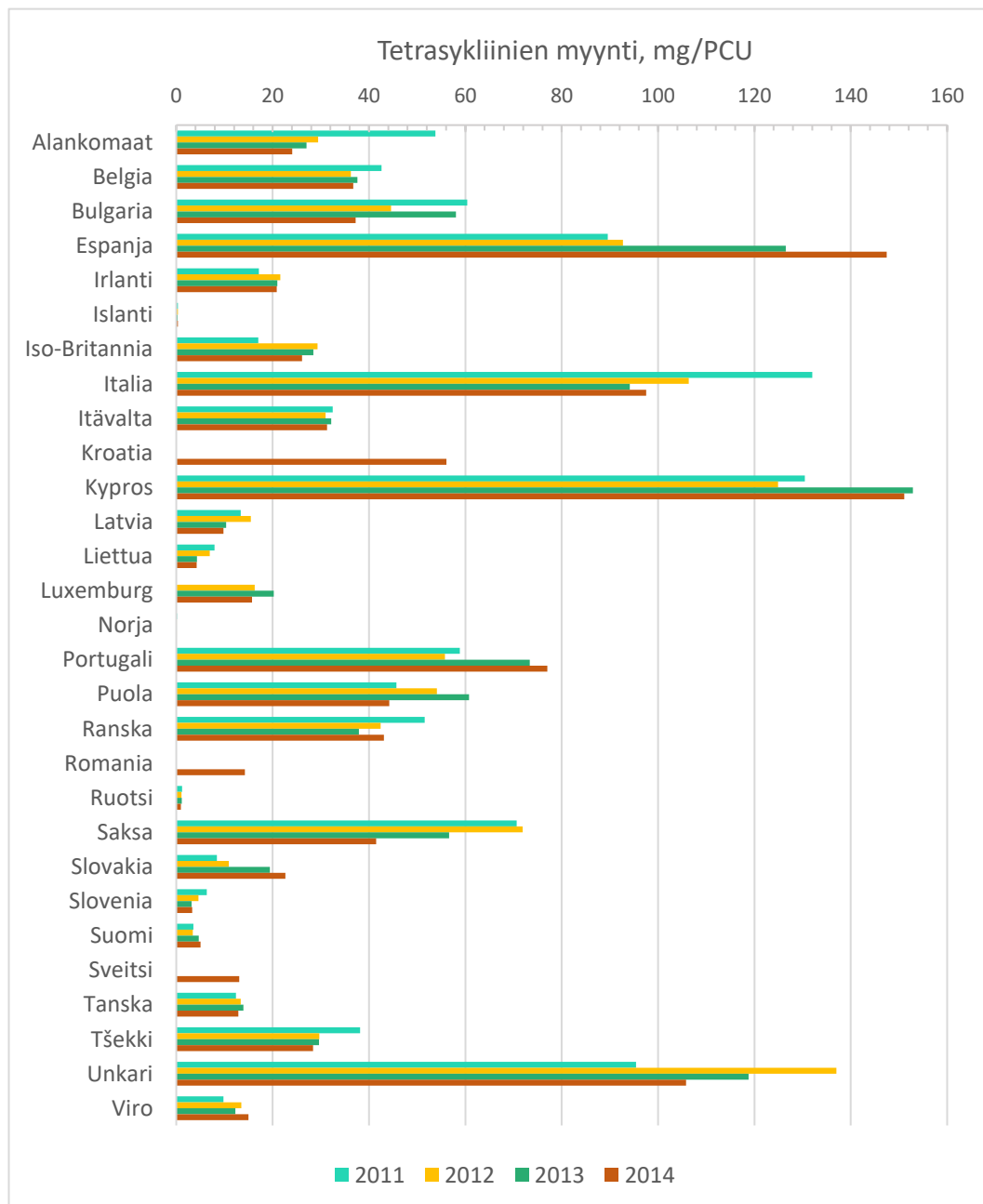
Espanja

Portugali

Malta

Kuvassa 6 on havainnollistettu Euroopan maiden tetrasykliinien myynninkehitystä vuosina 2011–2014. Kroatian, Romanian ja Sveitsin myynninkehitystä ei pystytty seuraamaan, sillä näiltä mailta puuttuu vuosien 2011–2013 myyntitiedot. Kymmenessä maassa, mukaan lukien Suomessa, vuoden 2014 tetrasykliinimyynti on ollut suurempaa kuin vuonna 2011. Suomen kasvanut myynti selittyy oletettavasti tetrasykliinien lisääntyneellä käytöllä turkiseläimien hoidossa. Tetrasykliinejä sisältävien mikrobilääkkeiden käyttö on kasvanut etenkin Slovakiassa, jossa vuoden 2014 myynti oli 170 % suurempi kuin vuonna 2011. Espanjassa jo alun perin korkea tetrasykliinien myynti oli kasvanut vuonna 2014 65 % prosenttia vuoden 2011 myynnistä. Alankomaissa ja Saksassa on havaittu selkeää trendiä

myynnin laskussa. Koska myyntitiedot on laskettu koko tuotantoeläinpopulaatiolle, eläinlajikohtaista vertailua ei pystytä tekemään. Maiden väliset erot myyntitilastoissa voivat johtua monista tekijöistä, kuten mikrobilääkkeen saatavuudesta, hinnasta, tuotantoeläinrakenteesta sekä yleisestä tautitilanteesta. Lisäksi lääkkeen käyttöpolitiikalla ja mahdollisilla vastuullisuuskampanjoilla on vaikutuksensa (EMA, 2016).

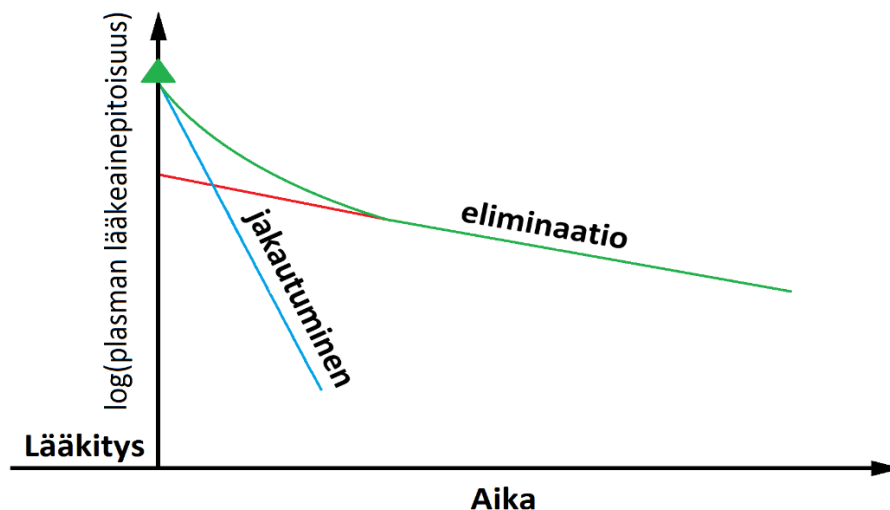


Kuva 6. Euroopassa tuotantoeläimiin käytettyjen tetrasykliinien myynti (mg/PCU) vuosina 2011–2014 (lähteet: EMA, 2016; EMA, 2015; EMA, 2014; EMA, 2013).

3.3 Farmakokinetiikka

Farmakokinetiikassa tutkitaan lääkeaineen kulkeutumista ja pitoisuuksia elimistön kudoksissa eri ajankohtina. Siinä käytetään hyväksi erilaisia matemaattisia malleja, kuten tilamalleja, kuvaamaan lääkeaineen käyttäytymistä mahdollisimman tarkasti. Kaksitilamallissa (kuva 7) lääkeaineen oletetaan siirtyvän ensin verenkiertoon ja siitä edelleen kudoksiin. Vähitellen lääkeaine palautuu takaisin keskustilaan. Farmakokinetiikkaan vaikuttaa lääkkeen omien ominaisuuksien lisäksi lääkityn eläimen laji ja rotu, yksilön ikä, mahdollinen sairaus, rasvapitoisuus ja ravitsemusaste sekä hormonaalinen tila (Telkänranta *et al.*, 2013).

Tutkimustulosten hyödyntämistä rajoittaa perinteiset farmakokineettisten tutkimusten suorittaminen terveillä aikuisilla eläimillä. Munuaisten tai maksan vajaatoiminta vaikuttaa esimerkiksi niissä metaboloituvien lääkeaineiden poistumiseen elimistöstä. Lisäksi haasteena ovat ylipäättänsä yksilöiden väliset erot. Kasvinsyöjien, kuten nautojen, vierasainemetabolia on tehokkaampaa kuin sekasyöjien, joihin muun muassa siat luetaan. Tästä syystä monet mikrobilääkkeet poistuvat kasvinsyöjien elimistöstä nopeammin (Telkänranta *et al.*, 2013) ja farmakokineettisten parametrien ekstrapolointi toisiin eläimiin on haastavaa.



Kuva 7. Kaksitilamallissa lääkeaineen pitoisuus plasmassa eri ajanhetkinä riippuu sekä jakautumisen että eliminaation nopeudesta. Vihreä käyrä kuvaa mitattua lääkeainepitoisuutta plasmassa, joka on jakautumis- ja eliminaatiokäyrän summakäyrä. Y-akselilla oleva vihreä kolmio on ekstrapoloitu keskustilan lähtöpitoisuus C_0 (muokattu: Telkänranta *et al.*, 2013).

Lääkemolekyylien päätyessä verenkiertoon osa niistä sitoutuu reversiibelisti plasman proteiineihin. Sitoutumaton lääkeaine leviää kehoon ja päätyy eliminoitavaksi pääsääntöisesti maksan ja munuaisten kautta. OTC poistuu kehosta suurimmaksi osin muuttumattomana virtsassa (Baggot, 1977). Seuraavaksi esitellään muutamia lääkeaineen käyttäytymistä kuvaavia matemaattisia kaavoja.

Mikrobilääkkeen leviämistä kuvataan näennäisellä jakautumistilavuudella V_d [l/kg]:

$$V_d = \frac{\text{elimistön sisältämä lääkeaineen määrä [mg/kg]}}{\text{lääkeaineen pitoisuus plasmassa [mg/l]}} \quad (1)$$

Mitä suurempi jakautumistilavuus on, sitä paremmin mikrobilääke jakautuu elimistöön. Jos jakautumistilavuus on suurempi kuin yksi, lääkeainetta kerääntyy kudokseen pois plasmasta (Sandholm, 1986). Tetrasykliinit kerääntyvät esimerkiksi luuston kalsiumiin (Telkänranta *et al.*, 2013).

Kaavalla 1 laskettu jakautumistilavuus pätee vain tilanteissa, joissa yksitilamallilla kuvattava lääkeaine on injektoitu suoneen. Lääkeaineille, joiden kinetiikkaa kuvaa parhaiten kaksitilamalli, lasketaan jakautumistilavuus seuraavalla kaavamuodolla (2). Lääkkeenantotavalla ei ole väliä, oletuksena on, että annos on kokonaan käytettävissä:

$$V_{d(area)} = \frac{\text{elimistön sisältämä lääkeaineen määrä}}{AUC \cdot k_{el}} \quad (2)$$

missä AUC on konsentraatio-aika -käyrän alle jäänyt pinta-ala ja k_{el} eliminaation nopeusvakio (Baggot, 1977). k_{el} kuvaa lääkeaineen siirtymisen nopeutta keskustilasta eliminaatioelimiin eli sen poistumisnopeutta elimistöstä (Telkänranta *et al.*, 2013).

Yleisesti ottaen mikrobilääkkeiden eliminaatio noudattaa ensimmäisen asteen kinetiikkaa eli elimistöstä poistuu samassa aikayksikössä aina sama osuus jäljellä olevasta määrästä. Plasman mikrobilääkepitoisuus voidaan ilmoittaa seuraavasti (Kivistö & Neuvonen, 2001; Sandholm, 1986):

$$C_t = C_0 e^{-k_{el}t} \Leftrightarrow \ln C_t = \ln C_0 - k_{el}t \quad (3)$$

Kymmenlogaritmijärjestelmässä kaava on muotoa:

$$\log C_t = \log C_0 - \frac{k_{el}t}{2,303} \quad (4)$$

missä C_t kuvaa plasman mikrobilääkepitoisuutta ajanhetkellä t , C_0 on plasman alkupitoisuus ja t aika.

Puoliintumisaika tarkoittaa aikaa, jonka kuluttua plasman sisältämästä mikrobilääkkeen alkupitoisuudesta on jäljellä enää puolet. Sijoittamalla kaavaan $C_t/C_0=0,5$ saadaan puoliintumisajalle $t_{1/2}$ kaava (Kivistö & Neuvonen, 2001):

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt \Leftrightarrow \ln 0,5 = -kt_{1/2} \Leftrightarrow t_{1/2} = \frac{0,693}{k_{el}} \quad (5)$$

Lääkeaineen eliminaatiota voi kuvata myös puhdistumalla Cl [ml/min/kg_{bw}], joka on elimistöstä poistettavan lääkeaineen laskennallinen plasmatilavuus aikayksikössä. Puhdistuma on riippuvainen eläimen tilasta, kuten maksan ja munuaisten kunnosta. Puhdistuman voi laskea seuraavalla kaavalla (Sandholm, 1986):

$$Cl = k_{el} \cdot V_d = \frac{0,693 \cdot V_d}{t_{1/2}} \quad (6)$$

Kaksitilamallin avulla plasman lääkeainepitoisuus esitetään muodossa (Telkänranta *et al.*, 2013):

$$C_t = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \quad (7)$$

$$C_0 = A + B \quad (8)$$

missä A ja B ovat jakautumis- ja eliminaatiovaiheen ekstrapoloituja plasman pitoisuuksia ajanhetkellä 0 h, ja α ja β ovat pitoisuuskäyrien kulmakertoimet.

Ensimmäisen asteen mallissa käytettävä eliminaation nopeusvakio kaksitilamallin parametreilla on muotoa (Toutain & Raynaud, 1983):

$$k_{el} = \frac{\alpha\beta(A + B)}{A\beta + B\alpha} \quad (9)$$

Kolmitilamallissa lääkeaine siirtyy veritilan ja erilailla käyttäytyvien kudosten välillä (Telkänranta *et al.*, 2014), joten plasman lääkeainepitoisuutta kuvaava kaava saa yhden termin lisää:

$$C_t = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Ce^{-\gamma t} \quad (10)$$

$$C_0 = A + B + C \quad (11)$$

missä A, B ja C ovat ekstrapoloituja plasman pitoisuuksia ajanhetkellä 0 h, ja α , β ja γ ovat pitoisuuskäyrien kulmakertoimet.

Mallit eivät kuvaa täydellisesti todellisuutta vaan ovat yksinkertaistettuja malleja, joissa on tehty monia oletuksia. Lisäksi on pidettävä mielessä eläinten yksilölliset vaihtelevuudet ja tiedonpuutteen aiheuttama epävarmuus.

3.4 Mikrobilääkkeiden maltillinen käyttö eläinlääkinnässä

Mikrobilääkkeet ovat erittäin tärkeitä mikrobiperäisten eläintautien hoidossa. Käytön haittapuolena on kuitenkin mikrobien lääkeresistenssin kehittyminen ja leviäminen. Resistenssin kehittymistä edistää etenkin mikrobilääkkeiden epäasianmukainen käyttö. Asianmukaisessa mikrobilääkekäytössä hoito kohdennetaan oikeaan indikaatioon ja annoskoko on ohjeistuksen mukainen. Lisäksi hoitoajan pituus on oltava sopiva. Hyväksytyn valmisteiden käytössä tulee noudattaa EU:n lainsäädäntöä ja maakohtaisia säännöksiä (Komission tiedote 2015/C 299/04). Ensisijaisesti tulisi käyttää kapeakirjoista mikrobilääkettä, kuten

penisilliiniä, jos taudinaiheuttaja on sille herkkä eikä potilas ole allerginen. Lisäksi ihmisten vakavien infektioiden hoidossa käytettäviä mikrobilääkkeitä ei saa käyttää eläimille (Evira & HY ELTDK, 2016).

Oikeanlaisen mikrobilääkehoidon antamisen lisäksi, ehkä vieläkin tärkeämpää olisi ensisijaisesti pyrkiä vähentämään niiden turhaa käyttöä. Tällä tavoin toimimalla voitaisiin vähentää myös elintarvikeketjuun mahdollisesti päätyviä mikrobilääkejäämiä. Mikrobilääkkeiden käytön tarve saattaa vähentyä noudattamalla hyvää tuotantotilan hygieniää, mikä edistää eläinten terveyttä ja laskee infektioriskiä (Beyene, 2016). Hyviin tuotantotilakäytäntöihin kuuluvat muun muassa hyvä rehuhygieniä, tilan puhdistaminen, asiattomien kulkukielto sekä jyrstöiden, lintujen, hyönteisten ja muiden bakteerivälittäjien kulun esto (McEwen, 2012a).

4 Tetrasykliinijäämät elintarvikkeissa

Nautojen ja sikojen infektioiden hoidossa käytetyistä tetrasykliineistä saattaa jäädä jäämiä lihaan ja maitoon sekä niistä valmistettuihin elintarvikkeisiin. Lääkejäämien pitoisuuteen vaikuttavat muun muassa lääkeaineen farmakokinetiikka ja -dynamiikka, joihin puolestaan vaikuttavat eläimen yksilölliset tekijät, kuten terveydentila ja ikä. Lisäksi lääkejäämien pitoisuuteen vaikuttavat muun muassa lääkkeen fysikaaliskemialliset ominaisuudet, väärinkäyttö sekä varoajan noudattamatta jättäminen (Beyene, 2016). Pitkäkestoisten lääkkeiden toiminta perustuu hitaaseen vapautumiseen injektio kohdasta. Tästä syystä niiden käyttö johtaa suuremmalla todennäköisyydellä lääkejäämiin lihassa (Nouws, 1984). Elintarvikkeissa esiintyvät tetrasykliinijäämät voivat aiheuttaa terveydellisiä haittoja kuluttajille, mutta jäämien määrä on yleensä pientä.

4.1 Mikrobilääkejäämiin liittyvä lainsäädäntö Euroopassa

Mikrobilääkejäämiin liittyy lakisäädöksiä, jotta elintarvikkeet olisivat mahdollisimman turvallisia kuluttajille. Euroopan unionissa eläinperäisten elintarvikkeiden sisältämistä mikrobilääkejäämien enimmäisrajoista (MRL, *maximum residue level*) on komission asetus (EU) 37/2010. MRL-arvossa huomioidaan itse lääkeyhdisteen lisäksi sen metaboliatuote, 4-epimeeri. Jäämien enimmäisrajat ovat kudskohtaisia. Tetrasykliinien (kloori-, oksi- ja tetrasykliinien) MRL-arvot ovat sekä sian- että naudanlihalle 100 µg/kg, maksalle 300 µg/kg, munuaisille 600 µg/kg ja maidolle 100 µg/kg (komission asetus 37/2010). Jäämiä voi kertyä myös luustoon, josta ne saattavat esimerkiksi teurastuksen aikana kulkeutua lihaan. MRL-arvoista voi nähdä, että elintarvikkeille, joita kulutetaan harvemmin tai pienempinä annoksina, on sallittu suuremmat jäämäpitoisuudet (Wang *et al.*, 2012).

Eläimistä saataville tuotteille suoritettavista tarkastustoimenpiteistä on asetettu neuvoston direktiivi 96/23/EY. Jäsenvaltioilla on oltava hyväksytty suunnitelma, josta ilmenevät kansalliset toimenpiteet. Tuottajaryhmittymien omilla tarkastusjärjestelmillä pyritään takaamaan elintarvikkeiden turvallisuus tehostetulla valvonnalla. Direktiivillä määrätään myös näytteenoton taso ja tiheys. Toimenpiteiden tavoitteena on luoda tehokas ja yhtenäinen tarkastusjärjestelmä (neuvoston direktiivi 96/23/EY). Resistenssin kehitystä seurataan indikaattorilajeilla, jotka on määrätty komission täytäntöönpanopäätöksessä 2013/652/EU. Tästä kerrotaan enemmän kappaleessa 5.2.

Euroopan jäsenmaat kattavien säädösten lisäksi on tarkentavia kansallisia asetuksia. Suomessa maa- ja metsäministeriö on määrännyt asetuksessa 795/2014 jokaisen meijeriin saapuvan raakamaitoerän tarkastettavaksi mikrobilääkejäämistä. Tehokkaat testimenetelmät takaavat turvalliset maitotuotteet kuluttajille ja vähentävät muun muassa juustontuotannossa prosessointiongelmia (Karlström *et al.*, 2007). Taulukkoon 1 on koottu vuosina

2000–2011 tuottajamaitonäytteistä tehtyjen mikrobilääkejäämätutkimusten määrä ja positiiviset löydökset (Anon., 2016d). Taulukosta nähdään, että positiivisten löydösten osuus on kasvussa, mutta syy tähän saattaa olla myös entistä herkempien detektiomenetelmien käyttö, mikä mahdollistaa entistä pienempien pitoisuuksien määrittämisen. Tulokset eivät kuitenkaan kerro, mitä yksittäisiä mikrobilääkejäämiä maitoeristä on löytynyt.

Taulukko 1. Vuosina 2000–2011 suomalaisista tuottajamaitonäytteistä tehdyt mikrobiologiset antibioottijäämätutkimukset ja positiivisten löydösten lukumäärä (Anon., 2016d).

Vuosi	Tutkittujen tilojen lkm	Mikrobilääke-tutkimusten lkm	Positiivisten löydösten lkm	Positiivisten löydösten % -osuus
2000	11 539	35 249	22	0,06
2001	17 178	45 227	11	0,02
2002	17 837	45 926	25	0,06
2003	16 923	36 502	17	0,05
2004	15 161	31 478	10	0,03
2005	12 491	31 363	8	0,03
2006	12 650	24 700	22	0,09
2007	11 976	23 190	25	0,11
2008	10 567	20 759	29	0,14
2009	8 467	19 674	32	0,16
2010	9 748	21 851	29	0,13
2011	8 960	18 096	32	0,16

Maidon kemiallinen turvallisuus on tärkeä asia kansanterveyttä ajatellen, sillä maitotuotteita käytetään laajasti kaikissa ikäluokissa. Tästä syystä maitotiloilla on erittäin tärkeää noudattaa ohjeita ja säädöksiä, joilla voidaan varmistaa tuotteiden laatu ja turvallisuus (Jahed Khaniki, 2007). Suomalaisen tuottajamaitonäytteiden positiivisten löydösten osuus on erittäin pieni, joten suomalainen maito voidaan arvioida turvallisesti käyttää.

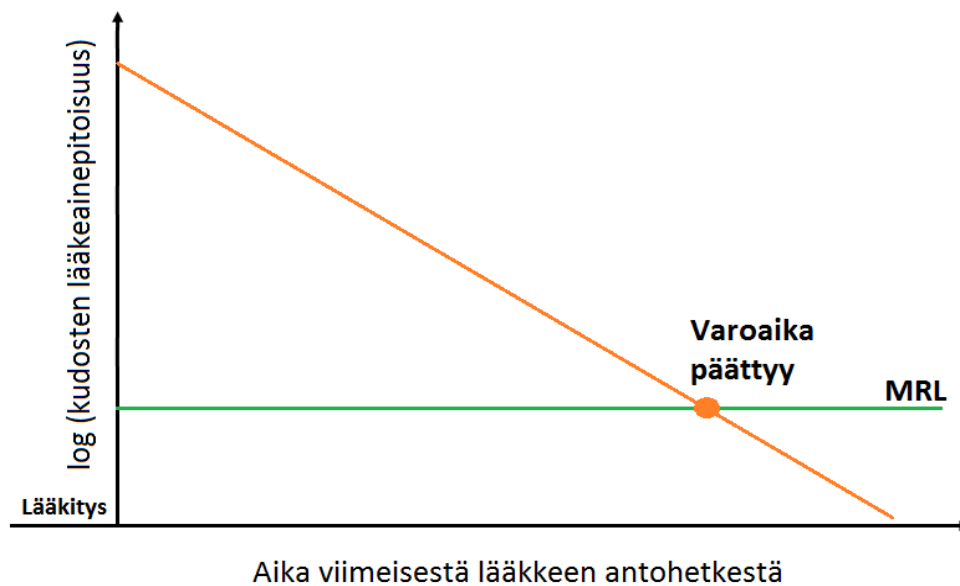
Kuluttajalle mahdollisen terveysvaaran aiheuttaville yhdisteille on määritelty hyväksytty päivittäinen saanti (ADI, *acceptable daily intake*), joka ilmoitetaan milligrammoina kuluttajan painokiloa kohti. ADI-arvo kuvaa mikrobilääkejäämän

määrää, jota päivittäin syötynä ei aiheuta kuluttajalle terveysriskiä. Rakenteellisesti ja toiminnallisesti samanlaisille yhdisteille voi olla yhteinen ADI-arvo (Moy, 2014), kuten klooritetrasykliinille, oksitetrasykliinille ja tetrasykliinille 0–30 µg/kg_{bw}/pv. Tämä tarkoittaa, että yksittäistä tetrasykliiniä tai kaikkia edellä mainittuja voi kuluttaa yhteensä 30 µg/kg_{bw} päivittäin ilman terveydellistä vaaraa (JECFA, 2016). Tietyn elintarvikkeen turvallinen mikrobilääkejäämämäärä voidaan laskea seuraavalla kaavalla 12 (Beyene, 2016):

$$\text{Turvallinen pitoisuus} = \frac{[ADI(\mu g_{OTC}/kg_{bw}/pv) \cdot m_{kuluttaja}(kg_{bw})]}{m_{kulutus}(g/pv)} \quad (12)$$

missä ADI on lääkeaineen hyväksytty päivittäisaanti kuluttajan painokiloa kohti, $m_{kuluttaja}$ on kuluttajan massa ja $m_{kulutus}$ kulutettavan elintarvikkeen massa.

Lääkevalmisteille määritetään varoajat, joita on noudatettava, jos eläinperäisiä tuotteita aiotaan saattaa markkinoille (neuvoston direktiivi 96/23/EY). Varo aika on aikaväli, joka alkaa viimeisen lääkeannoksen antamisesta ja päättyy lääkejäämän alittaessa MRL-tason (kuva 8). Varoajan jälkeen tuotantoeläimen teurastaminen elintarvikekäyttöön ja sen maidon käyttäminen on turvallista. Varo aika määritetään sen kudoksen mukaan, jonne lääkeaine kertyy (Beyene, 2016). OTC konsentroituu muun muassa maksaan ja munuaisiin (Kariaho *et al.*, 2014). Lääkkeen poistuminen elimistöstä on riippuvainen eläimen anatomiasta, fysiologiasta ja biokemiallisista prosesseista, joten annetut varoajat ovat suuntaa-antavia. Tästä syystä on erittäin tärkeää kirjata ylös, mitä, kuinka paljon, miten ja milloin mikrobilääkettä on annettu (Wang *et al.*, 2012). Varoajan riittävydessä on haasteena eläimen yksilöllisten erojen lisäksi sairauden mahdollinen vaikutus mikrobilääkkeen poistumiseen elimistöstä ja erityisesti mahdollinen vaikutus tärkeimpien eliminaatioelinten, maksan ja munuaisten, toimintaan. Eliminaatioelinten vajaatoiminta voi nimittäin hidastaa lääkeaineen poistumista elimistöstä (Telkänranta *et al.*, 2013).



Kuva 8. Varoajan määrittäminen MRL-arvon avulla (muokattu: Telkänranta *et al.*, 2013).

Vierasainevalvonta Suomessa

Vieraiden aineiden esiintymistä eläimistä saatavissa elintarvikkeissa (lihassa, maidossa, kalastustuotteissa, munissa ja hunajassa) seurataan ja valvotaan valtakunnallisesti vierasainevalvontaohjelman avulla. Eviran tehtävänä on laatia vierasainevalvontaohjelma, huolehtia sen toteuttamisesta ja raportoinnista komissiolle ottaen huomioon neuvoston direktiivin 96/23/EY vaatimukset. Lisäksi Suomea sitovien kansainvälisten sopimusten asettamat vaatimukset on otettava huomioon. Valvontaohjelman näytteet ottaa toimivaltainen viranomainen ja ne tulee olla jäljitettävissä (MMM:n Vierasaineasetus 1/EEO/2007).

Naudanlihan kansallisessa vierasainevalvonnassa otetaan vuosittain näytteitä vähintään sellaisesta eläinmäärästä, joka vastaa 0,4 % edellisenä vuonna teurastetuista naudoista. Otetuista näytteistä 37,5 %:sta on analysoitava eläinlääkkeiden jäämiä. Sianlihan kansallisessa vierasainevalvonnassa otetaan vuosittain näytteitä vähintään sellaisesta eläinmäärästä, joka vastaa 0,05 % edellisenä vuonna teurastetuista sioista. Otetuista näytteistä 60 %:sta on analysoitava eläinlääkkeiden jäämiä (neuvoston direktiivi 96/23/EY). Vuonna 2015 tutkittiin eläinlääkkeiden jäämiä 368 nautaeläimistä saaduista näytteistä

(näytteitä yht. 1290) ja 767 sioista saaduista näytteistä (näytteitä yht. 1415) eikä niistä todettu raja-arvoja ylittäviä pitoisuuksia (Evira, 2016).

Maidon kansallisessa vierasainevalvontaohjelmassa otetaan vuosittain vähintään yksi (1) raakamaitonäyte 15 000 tonnia maidontuotantoa kohti, mutta kuitenkin vähintään 300 näytettä. Otetuista näytteistä ainakin 70 %:sta on analysoitava eläinlääkkeiden jäämiä (komission päätös 97/747/EY). Valvontaohjelmassa oksitetrasykliinin seulontamenetelmänä käytetään mikrobiologista Delvotest SP-NT -testiä sekä kemiallista analyysiä. Vuosien 2011–2016 Suomen näytteistä yhdessäkään ei todettu oksitetrasykliiniä. Ei voida kuitenkaan varmuudella sanoa, etteikö näytteissä olisi ollut alle toteamisrajan verran jäämiä.

4.2 Tetrasykliinijäämien terveysvaikutuksia kuluttajaan

Tetrasykliinijäämien vaikutus kuluttajan terveyteen riippuu altistuksen suuruudesta. Mitä enemmän tetrasykliinejä sisältävää elintarviketta yksilö syö, sitä korkeampi on jäämien aiheuttama terveysriski (Presi *et al.*, 2009). Mikrobilääkejäämät voivat vaikuttaa kahdella tavalla kuluttajaan. Ensinnäkin, terveysvaara voi aiheutua suoraan elintarvikkeen sisältämisestä tetrasykliinijäämistä. Toisaalta, vaara voi muodostua epäsuorasta vaikutuksesta, mikä johtuu jäämien aiheuttaman valintapaineen johdosta muodostuneista tetrasykliineille resistenteistä mikrobeista (Beyene, 2016). Tämä puolestaan vaikeuttaa sekä eläinten että ihmisten mikrobilääkehoitoja, joissa käytetään tetrasykliinejä (Nisha, 2008).

Tetrasykliinijäämistä johtuva valintapaine voi muun muassa aiheuttaa suoliston mikrobiflooraan epätasapainoa, resistenttien mikrobilajien kehittymistä ja runsasta mikrobikasvustoa sekä herkkien lajien hidasta kasvua. Lapsilla tämä epätasapaino voi johtaa muun muassa ärtyvän suolen oireyhtymään, ummetukseen, pohjukkaissuolitulehdukseen, ruoka-allergioihin, immuunivajaustilaan tai anemiaan. Suolistossa olevan tetrasykliinipitoisuuden

vaikutusta mikrobiflooran inhibitioon voidaan kuvata Poisson-jakaumalla (Zaitseva *et al.*, 2014):

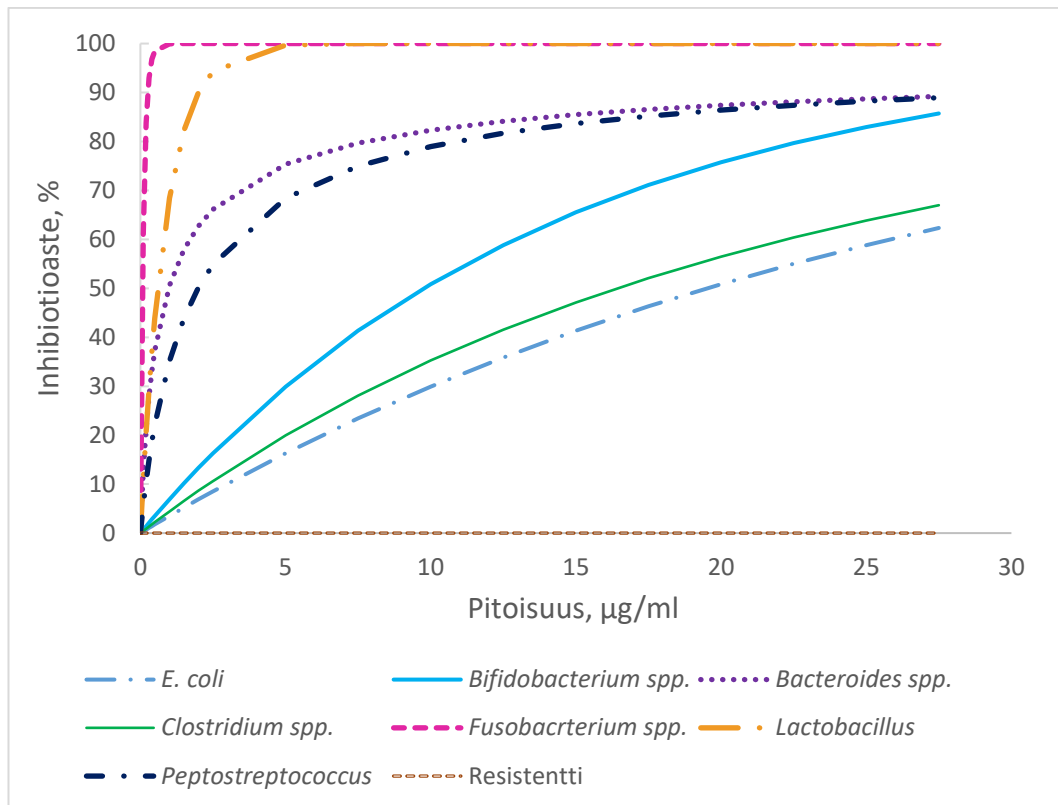
$$p_i = (1 - (1 + aC)^{-b}) \cdot 100\% \quad (13)$$

missä p_i kuvaa bakteerin i prosentuaalista inhibitiota, C on tetrasykliinin pitoisuus suolistossa, a ja b mallin parametreja (taulukko 2).

Taulukko 2. Tetrasykliinin aiheuttaman bakteerin kasvun inhibition kuvaamiseen käytettävän Poisson-jakauman parametrit (Zaitseva *et al.*, 2014).

Bakteerilaji	a	b
<i>Escherichia coli</i>	0,00024	148,40
<i>Bifidobacterium</i> spp.	0,00048	148,40
<i>Bacteroides</i> spp.	3,09000	0,50
<i>Clostridium</i> spp.	0,01000	4,56
<i>Fusobacterium</i> spp.	0,68000	14,27
<i>Lactobacillus</i>	0,00780	148,40
<i>Peptostreptococcus</i>	0,89000	0,68

Herkkyys tetrasykliiniä kohtaan vaihtelee bakteerilajeittain. Kuvasta 9 voidaan nähdä, miten suoliston tetrasykliinipitoisuus vaikuttaa bakteerikasvun hidastumiseen, mikä puolestaan muuttaa eri mikrobien välisiä suhteita ja mikrobiflooran koostumusta. *E. coli* - ja *Clostridium* -bakteerit ovat melko resistenttejä ja tetrasykliinin vaikutus on niillä heikkoa. Kaikkein herkimpiä lääkettäville ovat puolestaan *Fusobacterium* spp. ja *Lactobacillus* lajit. Kuvassa 9 esiintyviä tetrasykliinipitoisuuksia tavataan kuitenkin harvoin elintarvikkeissa, jos mikrobilääkekäytössä on noudatettu säännöksiä.



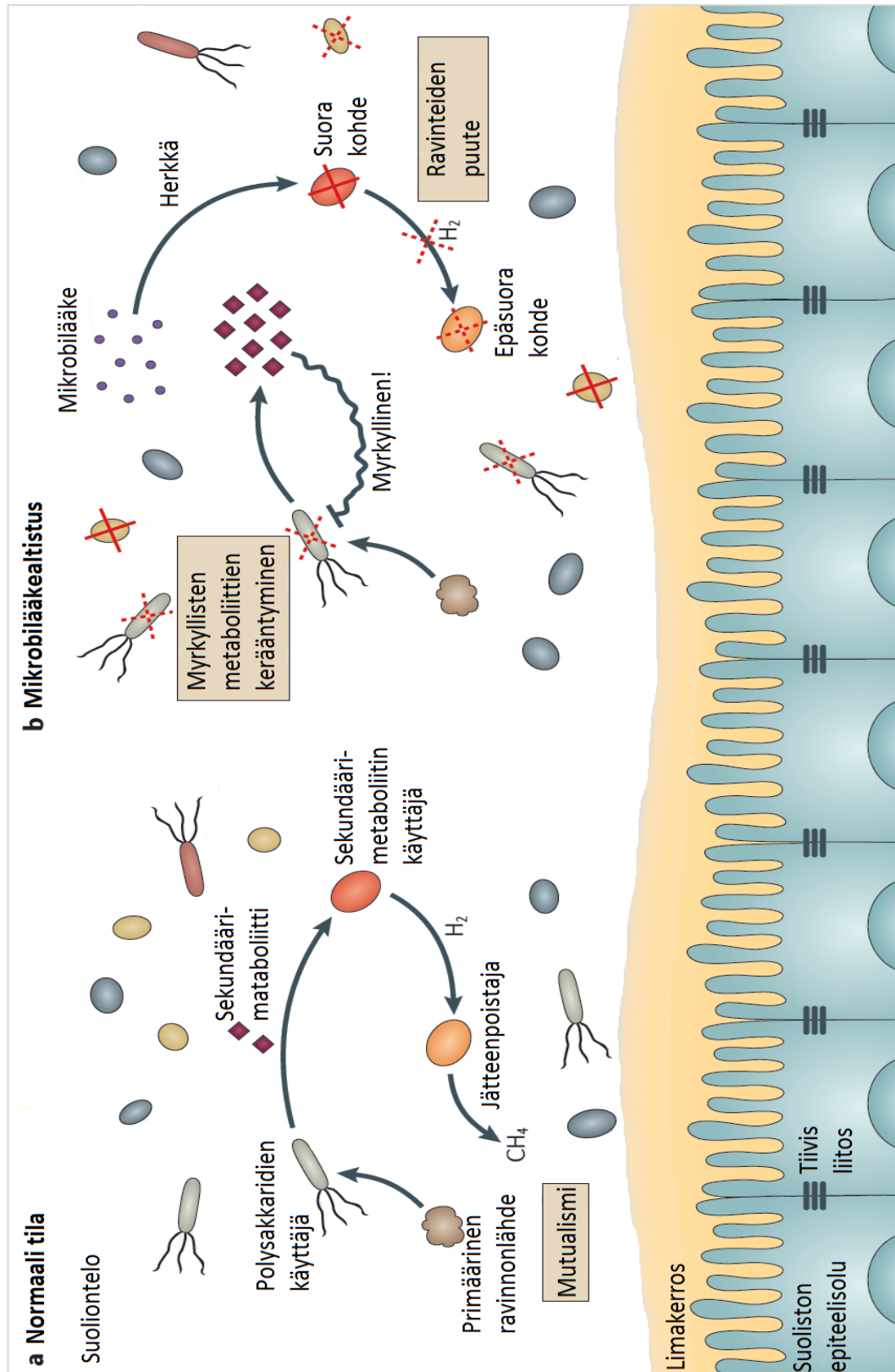
Kuva 9. Tetrasykliinipitoisuuden vaikutus mikrobiflooran inhibitioasteeseen (Zaitseva *et al.*, 2014).

Koska resistenssitekijöiden ilmentäminen ja ylläpito kuluttavat mikrobin energiaa, mikrobilääkejäamäaltistuksen päätyttyä resistenteillä lajeilla ei ole enää valintaetua ja herkkien mikrobien kasvu palautuu ennalleen. Jos tetrasykliinialtistus jää puolestaan alle terapeuttisen tason, lajit, joilla resistenssin ylläpito ei kuluta suuresti elinkykyä, pystyvät vastustamaan tetrasykliinien vaikutusta. Tätä pitoisuutta kutsutaan pienimmäksi selektiiviseksi pitoisuudeksi (MSC, *minimum selective concentration*). Toisin sanoen, MSC on alhaisin pitoisuus, jolla resistentti mikrobi saa vielä kilpailuedun (Van Vleck Pereira *et al.*, 2016).

Tetrasykliinit saattavat harvoissa tapauksissa aiheuttaa annoskoosta riippuvaa ripulia niin eläimille kuin ihmisillekin. Tarkkaa syytä ripulointiin ei tiedetä vähäisten tutkimusten takia, mutta sillä voi olla yhteyttä suolistomikrobiston epätasapainon kanssa. Ripuloinnin vakavuus riippuu annokseen lisäksi lääkeyhdisteen farmakokinetiikasta eli siitä, miten se jakautuu elimistössä. Koska sairastuminen riippuu annoskoosta, se on harvoin vakavaa ja parantuminen tapahtuu yleensä

muutaman päivän päästä altistuksen päättymisestä (Barlett, 1992). Tetrasykliinit voivat myös värjätä pysyvästi lasten kehittyviä hampaita, jolloin ne muuttuvat kellertäviksi. Jäämältistus voi aiheuttaa suolistomikrobiston epätasapainoa, ja suuret tetrasykliinialtistukset voivat johtaa hiivojen ylikasvuun. Tetrasykliinit rasittavat yleensä myös munuaisten toimintaa, mistä johtuen ne voivat kerääntyä ja aiheuttaa ylimääräisen kuormituksen sellaisille henkilöille, joilla on munuaisten vajaatoimintaa. Toisaalta, haittavaikutukset ovat ohimeneviä ja loppuvat altistuksen päätyttyä (Chopra *et al.*, 1992).

Normaali mikrobifloora suojaa isäntää patogeeneilta. Normaaliin mikrobiflooraan kuuluvat lajit elävät sovussa hyödyntäen toistensa metaboliaa eli lajien välillä vallitsee mutualismi (kuva 10). Normaalissa tilassa polysakkarideja käyttävät mikrobit saavat energiansa suolistossa olevista primäärisistä ravinnonlähteistä. Niiden aineenvaihdunnassa syntyy sekundäärisiä metaboliitteja, joita lähellä olevat sekundäärimetaboliittien käyttäjät hyödyntävät. Tämä johtuu siitä, että primääriset ravinnonlähteet ovat liian monimutkaisia niiden hajotettaviksi. Sekundäärimetaboliittien käyttäjät tuottavat jätettä, kuten vetyä, jonka jätteenpoistajat hyödyntävät energiantuottamiseen esimerkiksi metaanintuotannon kautta. Laajakirjoisuutensa takia tetrasykliinijäämät voivat horjauttaa tätä tasapainoa ja vaikutus on annoskoosta riippuvainen. Tetrasykliinit voivat esimerkiksi hidastaa sekundäärimetaboliittien käyttäjien kasvua, mikä edelleen aiheuttaa myrkyllisen sekundäärimetaboliitin kerääntymisen suolistoon. Lisäksi jätteenpoistajille ei ole energianlähdettä (Willing *et al.*, 2011).



Kuva 10. Mikrobilääkkeiden mahdollisia vaikutuksia suoliston normaaliin mikrobiflooraan. **a.** Normaalisessa tilassa suoliston mikrobien välillä vallitsee mutualismi. **b.** Mikrobilääkkeen ollessa läsnä mikrobien väliset vuorovaikutukset häiriintyvät joko suoraan (kiinteät ruksit) tai välillisesti (katkoviivalliset ruksit) (muokattu: Willing *et al.*, 2011).

4.3 Lämpökäsittelyn vaikutus oksitetrasykliinijäämiin

Elintarvikkeille suoritetaan erilaisia käsittelyitä ennen kulutusta. Lihatuotteita on tavanomaista kypsentää ennen nauttimista ja lehmänmaito voi käydä läpi lämpökäsittelyn mikrobiologisten vaarojen vähentämiseksi. Kyseisten käsittelyiden lämpötila ja pituus sekä elintarvikkeen matriisi vaikuttavat mikrobilääkejäämien määrään. Seuraavissa kappaleissa esitetyissä tutkimuksissa käytetyt liha- ja maitonäytteet ovat alun perin olleet jäämättömiä, joten OTC on lisätty jälkikäteen. Näytteet uutettiin ennen ja jälkeen lämpökäsittelyn, ja saaduista uutteista analysoitiin OTC-pitoisuus. On myös syytä huomioida, että tutkimustulokset tetrasykliinien hajoamisesta laboratoriossa eivät ole suoraan sovellettavissa niihin vaihteleviin olosuhteisiin, joissa elintarvikkeita käsitellään, kuten kotitalouksien keittiöihin, suurkeittiöihin ja ravintoloihin. Tutkimustulokset ovat siten vain suuntaa-antavia, mutta kuten alla on esitetty, lämpökäsittelyt vaikuttavat merkittävästi oksitetrasykliinin määrään, joten lämpökäsittelyn vaikutus altistumiseen on syytä ottaa huomioon.

Hajoaminen vedessä ja öljyssä

Oksitetrasykliinin hajoamista tutkittiin vedessä ja öljyssä ilman lihamatriisia. Sen puoliintumisaika 100 °C vedessä oli kaksi minuuttia, mutta 180 °C öljyssä se oli jopa kahdeksan minuuttia. Oksitetrasykliini on ilmeisesti herkempi lämmön vaikutuksille vedessä kuin öljyssä, mistä voitiinkin tehdä johtopäätös, että oksitetrasykliinin hajoaminen on hydrolyyttinen reaktio (Rose *et al.*, 1996).

Oksitetrasykliinin hajoamista vedessä on tutkittu myös hyvin korkeissa lämpötiloissa (110–140 °C). Lisäksi tarkasteltiin pH:n (7,0; 5,5; 4,0) ja veden aktiivisuuden (0,99; 0,96; 0,93) vaikutusta. Tutkitut pH-arvot ja vedenaktiivisuudet kuvaavat hyvin monien elintarvikkeiden vastaavia arvoja. UHT-käsittelyn, (135 °C/15 s, 140 °C/7 s) jälkeen oksitetrasykliiniä oli hajonnut noin 40 %. Oksitetrasykliiniä oli pH:ssa 7 alle minuutin iskukuumennuksen jälkeen hajonnut 90 %. Steriloinnissa (121 °C/20 min) oksitetrasykliiniä oli jäljellä alle 1 %. pH-arvolla

eikä vedenaktiivisuudella ollut suurta merkitystä oksitetrasykliinin hajoamisessa (Hassani *et al.*, 2008).

Naudanliha ja -maksa

Rose *et al.* (1996) tutkivat erilaisten valmistusmenetelmien vaikutusta oksitetrasykliinin määrään korkean erotuskyvyn nestekromatografialla (HPLC, *High performance liquid chromatography*) ja UV-detektorilla. Käytettyjä lämpökäsittelyitä olivat muun muassa mikroaaltouunilla kuumentaminen, keittäminen, paistaminen, grillaaminen ja käristäminen. Osa oksitetrasykliinistä havaittiin uuttuvan lihaa ympäröivään lihanesteeseen, joten kuluttajan altistumiseen vaikuttaa myös mahdollinen lihanesteen käyttö ruoanlaitossa. Tuloksissa huomioitiin lihanesteeseen uuttunut oksitetrasykliini (Rose *et al.*, 1996).

Vähiten oksitetrasykliiniä hajosi (18–35 %) grillatussa naudanlihassa ja pintapuolisesti ruskistetuissa naudanmaksassa, joiden sisäinen lämpötila oli korkeimmillaan 59–62 °C. Eniten oksitetrasykliiniä hajosi (94 %) kaasu-uunissa täysin kypsäksi paistetussa näytteessä. Paistaminen kesti 36 minuuttia ja lihan sisäinen lämpötila oli maksimissaan 98 °C. Rose *et al.* (1996) totesivat, että oksitetrasykliinin määrä laskee huomattavasti kuumennuksen aikana. Näin ollen kuluttajan altistumista arvioitaessa olisi hyvä ottaa huomioon valmistusmenetelmä (Rose *et al.*, 1996).

Sianliha

Nguyen *et al.* (2013) tutkivat ruoanvalmistuksen menetelmien vaikutusta tetrasykliinien määrään sianlihassa. Sianliha jauhettiin, siihen lisättiin OTC-kantaliuosta ja tehtiin 10 g:n painoisia lihapullia, jotka kypsennettiin keittämällä, uppopaistamalla tai mikroaaltouunissa. Määrittäminen tapahtui HPLC:llä ja UV-detektorilla eikä lihanesteeseen uuttunutta oksitetrasykliiniä huomioitu. Eniten oksitetrasykliiniä hajosi (60,4 %) keittämällä vedessä 9 minuutin ajan, jolloin lihan

sisäinen lämpötila oli korkeimmillaan 96,3 °C. Auringonkukkaöljyssä uppopaistaminen 9 minuutin ajan sai 54,9 % oksitetrasykliinistä hajoamaan ja lihapullan sisäinen lämpötila oli puolestaan korkeimmillaan 97,0 °C. Vähiten (25,3 %) oksitetrasykliiniä hajosi mikroaaltouunissa (800 W, 2450 MHz), jossa lämmitys kesti 0,5 minuuttia ja lihan sisäinen lämpötila saavutti korkeimmillaan 80,4 °C. Syynä oli luultavasti lyhyt käsittelyaika, sillä kaksinkertaisella käsittelyajalla (1 min) mikroaaltouunissa kuumentamisella sai aikaan 48,8 % hajoamisen. Oksitetrasykliinin vähenemän uskotaan johtuvan sen kulkeutumisesta lihanesteeseen ja proteiini-oksitetrasykliini -yhdisteiden denaturoitumisesta (Nguyen *et al.* 2013). Myös toisessa tutkimuksessa, jossa muodostunut lihaneste puolestaan kerättiin talteen analysointia varten, saatiin vastaavanlaiset tulokset. Tässä tutkimuksessa havaittiin OTC:n muuttuvan lämmön vaikutuksesta hajoamistuotteikseen (Nguyen *et al.*, 2015).

Maito

Shahanin (1958) tutkimuksessa tarkasteltiin lämpökäsittelyiden, säilytyksen, kuiva-ainepitoisuuden ja bakteerien vaikutusta maidon sisältämään oksitetrasykliinin (Terramycin®) määrään. Kuluttajan mikrobilääkejäämän altistusta arvioitaessa on hyvä ottaa nämä huomioon, sillä maidon prosessointi voi vaikuttaa jäämien pitoisuuteen. Oksitetrasykliinin inaktivoitumisen havaittiin noudattavan ensimmäistä reaktiokinetiikkaa (kaava 14) lämpötiloissa 62 °C ja 71 °C ensimmäisen 50 minuutin aikana (Shahani, 1958).

$$\log(a - x) = \frac{-k_1}{2,303}t + \log a \quad (14)$$

missä a on oksitetrasykliinin alkupitoisuus, x on vähenemä, t aika ja k_1 vakio.

Oksitetrasykliini inaktivoitui kokonaan lämpötiloissa 71 °C, 79 °C ja 85 °C ajassa 190 min, 92 min ja 60 min, samassa järjestyksessä. Oksitetrasykliiniä hajosi 30 minuutin lämpökäsittelyissä 23,6 %, 31,5 % ja 64,7 % lämpötiloissa 62, 71 ja 85 °C samassa järjestyksessä. Tutkimuksessa havaittiin ajan ja lämpötilan välillä olevan

lineaarinen suhde (Shahani, 1958). Pastöroinnissa, jossa maito kuumennetaan 85 °C:ksi kolmen sekunnin ajaksi, oksitetrasykliiniä hajosi vain 15,3 % (Kellnerová *et al.*, 2014).

Suomessa maito pastöroidaan vähintään +72 °C:ssa 15 sekunnin ajan. Laktoosittomien maitojuomien ja ruokakermojen valmistuksessa käytettävä maito korkeapastöroidaan, jossa maito kuumennetaan +125 – +135 °C:ssa 0,5–2 sekunniksi. Äidinmaitokorvikkeiden, vispi- ja kevytkerman valmistuksessa maito UHT-käsitellään (*ultra high temperature*) eli iskukuumennetaan. Siinä maitoa pidetään +135 °C:ssa muutaman sekunnin ajan (Anon., 2016c). Tautia aiheuttavien bakteereiden tuhoamista varten suoritettavien lämpökäsittelyiden aikoja verrattaessa Shahanin (1958) tekemien kokeiden tuloksiin voidaan päätellä, että OTC-jäämät eivät tuhoudu täysin maidon lämpökäsittelyissä. Raakamaitoa ei puolestaan lämpökäsitellä, joten sen OTC-pitoisuus on luultavasti sama kuin lypsyvaiheessa.

4.4 Tetrasykliinijäämien analyysimenetelmiä

Mikrobilääkkeiden käyttö sian ja naudan tuotannossa voi altistaa kuluttajan tetrasykliinijäämien aiheuttamille terveysriskeille, joten on erittäin tärkeää pystyä seuraamaan jäämien pitoisuutta elintarvikkeessa. Koska mikrobilääkejäämät ovat useimmissa tapauksissa hyvin alhaisia ja elintarvike on matriisina melko monimutkainen, tarvitaan herkkiä ja selektiivisiä menetelmiä. Tetrasykliinien analysointimenetelmät voidaan jakaa mikrobiologisiin ja kemiallisiin, joista jälkimmäiset ovat tarkempia. Jäämien pitoisuuden tulee olla alempi kuin MRL, jotta elintarvike on turvallista käyttää (Önal, 2011). Seuraavaksi esitellään lyhyesti maidon vierasainevalvonnassa käytettyjä menetelmiä, joita voi soveltaa myös lihanäytteisiin. Kiinteistä näytteistä tulee ensin uuttaa mahdolliset tetrasykliinijäämät elintarvikematriisista, minkä jälkeen saatu uutosto voidaan esikäsittelyiden jälkeen analysoida (Önal, 2011).

4.4.1 Mikrobiologinen analyysi

Suomessa maidon vierasainevalvonnassa käytetään Delvotest SP-NT -testiä, joka on mikrobiologinen testi. Sama testi on myös maidontuottajien käytössä. Vierasainevalvonnan lisäksi jäämätutkimuksia tehdään maidontuotantoketjun eri vaiheissa (Telkänranta *et al.*, 2013). Delvotest SP-NT perustuu mahdollisen mikrobilääkejäämän aiheuttamaan *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* C953 -itiöiden germinoitumisen ja kasvun estämiseen tai hidastumiseen. Jos näytteessä ei ole lääkejäämiä, itiöiden germinoituminen ja kasvu saavat violetin indikaattorin vaihtamaan väriä keltaiseksi. Delvotest SP-NT -testin haasteena on se, että mikrobilääkkeiden lisäksi jotkut muutkin yhdisteet voivat saada aikaan positiivisen testituloksen. Positiiviset ja epävarmat positiiviset näytteet tutkitaan vielä kemiallisesti tuloksen varmistamiseksi (Pekkanen, 2015). Delvotest SP-NT -testi ei myöskään detektoi kovin alhaisia oksitetrasykliinipitoisuuksia. Testin herkkyys on β -laktaameille yli sata kertaa parempi kuin oksitetrasykliinille (Anon., 2017d). Oksitetrasykliinijäämät tutkitaan maidosta sekä mikrobiologisella että kemiallisella menetelmällä.

4.4.2 Kemiallinen analyysi

Koska mikrobiologisen Delvotest SP-NT -testin herkkyys vaihtelee mikrobilääkkeittäin, epäselvissä tilanteissa jäämien varmistamiseen tarvitaan kemiallinen analyysi. Maidon vierasainevalvonnassa käytetään nestekromatografiaa. Nestekromatografi voi olla yhdistettynä tandem-massaspektrometriin. Detektoreina voidaan käyttää myös fluoresenssidetektoria tai diodidetektoria (Önal, 2011). Suomessa maidon vierasainevalvonnassa vuosina 2011–2016 käytettyjen menetelmien toteamisrajat oksitetrasykliinille vaihtelivat välillä 5–50 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

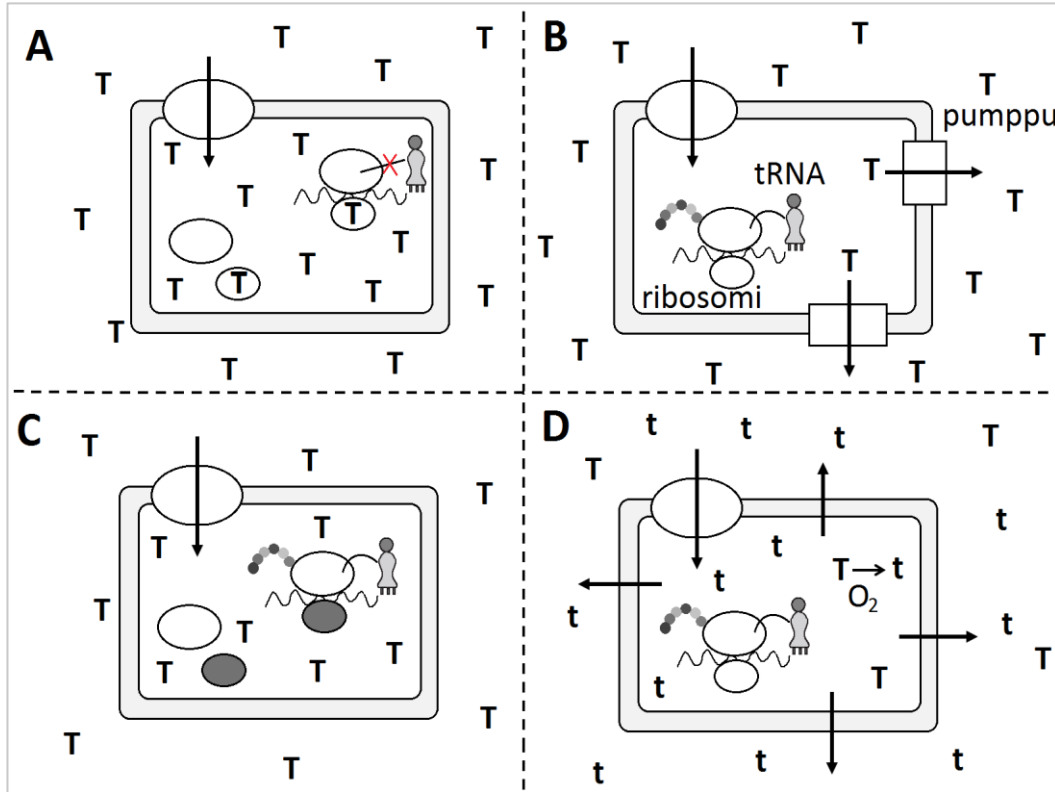
5 Tetrasykliiniresistenssi

” Antibiotic resistance as a phenomenon is, in itself, not surprising. Nor it is new. It is, however worrying, because it is accumulating and accelerating while the world’s tools for combating it decrease in power.” (Joshua Lederberg, ForMemRS, Lääketieteen nobelisti v. 1958) Mikrobilääkkeiden käyttö bakteeri-infektioiden hoitoon sekä eläimillä että ihmisillä johtaa vääjäämättä mikrobilääkeresistenssin kehittymiseen. Resistenssi tuo mikrobille etulyöntiaseman verrattuna lääkeaineelle herkkiin lajeihin. Resistenssi voi olla mikrobille luontaista, kehittynyt mutaation myötä tai se on voinut saada resistenssitekijän toiselta resistentiltä yksilöltä (Sharma *et al.*, 2014). Mikrobitaudit, joita on aikaisemmin onnistuttu hoitamaan onnistuneesti, voivat muuttua vaikeammin hoidettaviksi mikrobilääkkeiden tehon heikentyessä. Tämä puolestaan aiheuttaa lisäkuluja yhteiskunnalle (CDDEP, 2015).

5.1 Tetrasykliiniresistenssin mekanismeja

Tetrasykliiniresistenssiä ilmenee mikrobeissa ainakin kolmella eri mekanismilla. Tetrasykliinin aktiivisessa ulospumppauksessa mikrobi tuottaa membraaniin proteiineja, jotka pumppaavat tetrasykliinejä ulos solusta. Ribosomaalisessa suojauksessa ribosomissa on tapahtunut rakenteellinen muutos, jolloin se ei enää ole herkkä tetrasykliinin vaikutukselle. Harvinaisimmassa mekanismissa tetrasykliiniä muokataan entsyymaattisesti hapen läsnä ollessa, jolloin se inaktivoituu (Wang *et al.*, 2012). Edellä mainitut resistenssimekanismit on havainnollistettu kuvassa 11. Lisäksi resistenssin myötä mikrobit voivat muuttaa soluseinän läpäisevyyttä kuten myös erilaisia useiden lääkeaineiden kuljetusjärjestelmiään (*multidrug transporter systems*) (Michalova *et al.*, 2004). Tetrasykliiniresistenssin mekanismi riippuu mikrobista itsestään ja siitä, missä resistenssitekijät sijaitsevat, joko kromosomistossa tai plasmideissa (Sharma *et al.*, 2014). Resistenssitekijät ovat yleensä plasmideissa, joita bakteerit kykenevät siirtämään toisiinsa (Kariaho *et al.*, 2014). Tetrasykliiniresistenssi siirtyykin

pääsääntöisesti solujen välisellä konjugaatiolla ja niitä on löydetty patogeeneiltä, opportunistisilta mikrobeilta sekä ihmisen että eläinten mikrobifloorasta. Eri ekosysteemeissä olevat bakteerit voivat siis vaihtaa geneettistä materiaalia keskenään (Chopra & Roberts, 2001).



Kuva 11. Tetrasykliiniresistenssin mekanismit. A) Tetrasykliini (T) kiinnittyy ribosomiin ja estää proteiinisynteesin herkällä bakteerilla. B) Resistentillä bakteerilla on solumembraanissa pumppuja (suorakulmiot), jotka kuljettavat tetrasykliinin ulos solusta. Pitoisuus solun sisällä on liian alhainen estääkseen proteiinisynteesin. C) Ribosomaalisessa suojauksessa tetrasykliini ei pysty kiinnittymään rakenteellisesti muuttuneeseen ribosomiin. D) Tetrasykliini kulkeutuu solun sisälle, jossa se muokataan entsyymaattisesti inaktiiviseen muotoon (t) ja diffundoituu ulos solusta (muokattu: Salyers *et al.*, 1990).

5.2 FINRES-Vet -mikroblääkeresistenssin seurantaohjelma

Suomessa mikroblääkeresistenssin seurantaohjelma, FINRES-Vet, toteutetaan Eviran ja FIMEA:n yhteistyönä EU-lainsäädäntöä (täytäntöönpanopäätöstä 2013/652/EU) ja Suomen kansallisia päätöksiä noudattaen. Ohjelmassa tutkitaan zoonoosibakteerien ja muiden taudinaiheuttajien sekä indikaattoribakteerien mikroblääkeherkkyyttä (Anon., 2016e). Bakteerin mikroblääkeherkkyyttä

kuvataan MIC-arvolla (*minimum inhibitory concentration*), joka on pienin mikrobilääkepitoisuus, joka estää mikrobin kasvua (Kariaho *et al.*, 2014). Resistenssitilanteen lisäksi seurataan rehun lisäaineiden ja eläinlääkintään tarkoitettujen mikrobilääkkeiden kulutusta (Anon., 2016e).

Indikaattoribakteereilla ilmenevä resistenssi kuvastaa mikrobilääkekäytön aiheuttamaa valintapainetta (Anon., 2016e). Komission täytäntöönpanopäätöksessä (2013/652/EU) indikaattorilajeiksi on määritetty *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ja *Enterococcus faecium*. Indikaattoribakteerit eristetään naudoista, sioista ja broilereista vuorovuosittain. Näytteet otetaan sattuman varaisesti terveistä eläimistä teurastamoissa (FINRES-Vet 2010–2012). Indikaattoribakteereiden resistenssi voi edelleen siirtyä patogeeneille (Anon., 2016e).

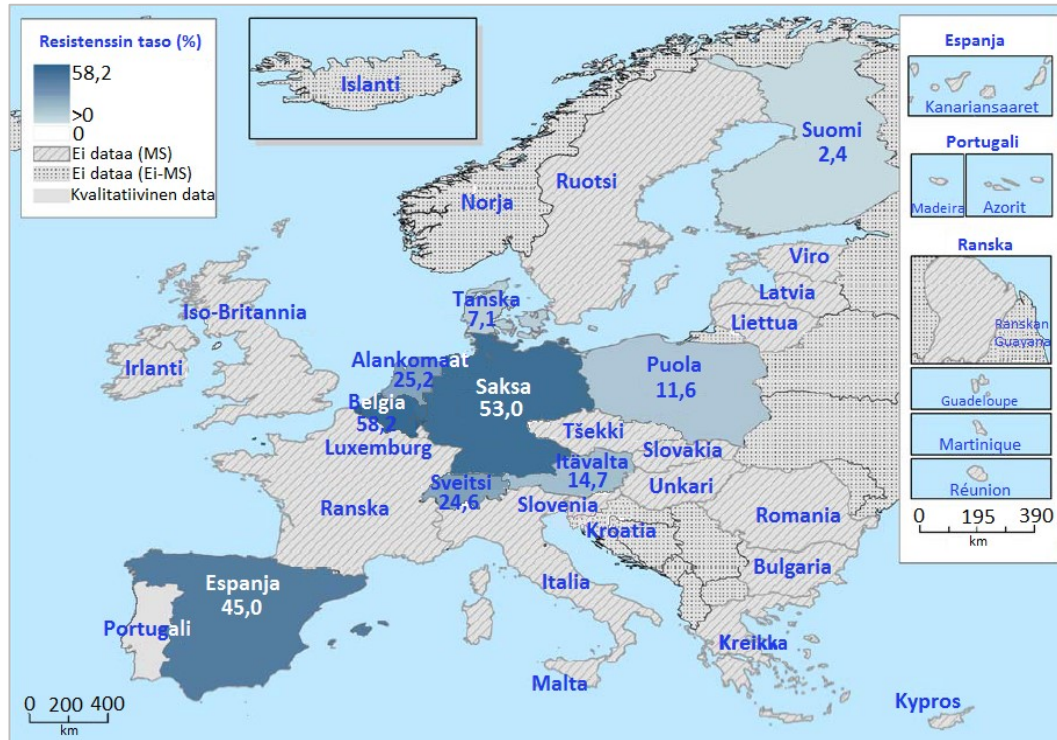
5.3 *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssintaso Euroopassa

Euroopan elintarviketurvallisuusviraston (EFSA:n) ja Euroopan tautien ehkäisy- ja -valvontakeskuksen (ECDC:n) raporteissa esitetään Euroopan maiden resistenssitilanteita. Resistenssiä tutkitaan ihmisistä, eläimistä ja elintarvikkeista eristetyistä zoonoosi- ja indikaattoribakteereista (EFSA & ECDC, 2014; EFSA & ECDC, 2015). Tässä työssä keskitytään naudasta ja siasta eristetyn *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssin esiintyvyyden tarkasteluun.

Naudasta eristetyn *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso vuonna 2012

Vuonna 2012 kvantitatiivista aineistoa naudan *E. coli* -indikaattoribakteerin resistenssistä saatiin seitsemältä EU-jäsenmaalta ja yhdeltä ei-jäsenmaalta (Sveitsiltä). Itävallassa, Suomessa, Sveitsissä ja Tanskassa näytteet otettiin sattumanvaraisesti terveistä eläimistä teurastuksen yhteydessä. Belgian ja Puolan näytteistä ei ole tarkempaa erittelyä. Kuvan 12 resistenssikarttaan on ilmoitettu resistenssitilanne vain niiden maiden osalta, joissa MIC-aineisto on saatu useammasta kuin 10 isolaatista. Jäsenmaissa (mukaan lukien Sveitsissä) todettu

resistenssin esiintyvyys vaihteli välillä 2,4–58,2 % (EFSA & ECDC, 2014). Vuonna 2009 vain 1,1 %:lla Suomessa naudoista eristetyllä *E. coli* -indikaattorilla oli tetrasykliiniresistenssi (FINRES-Vet 2007–2009).

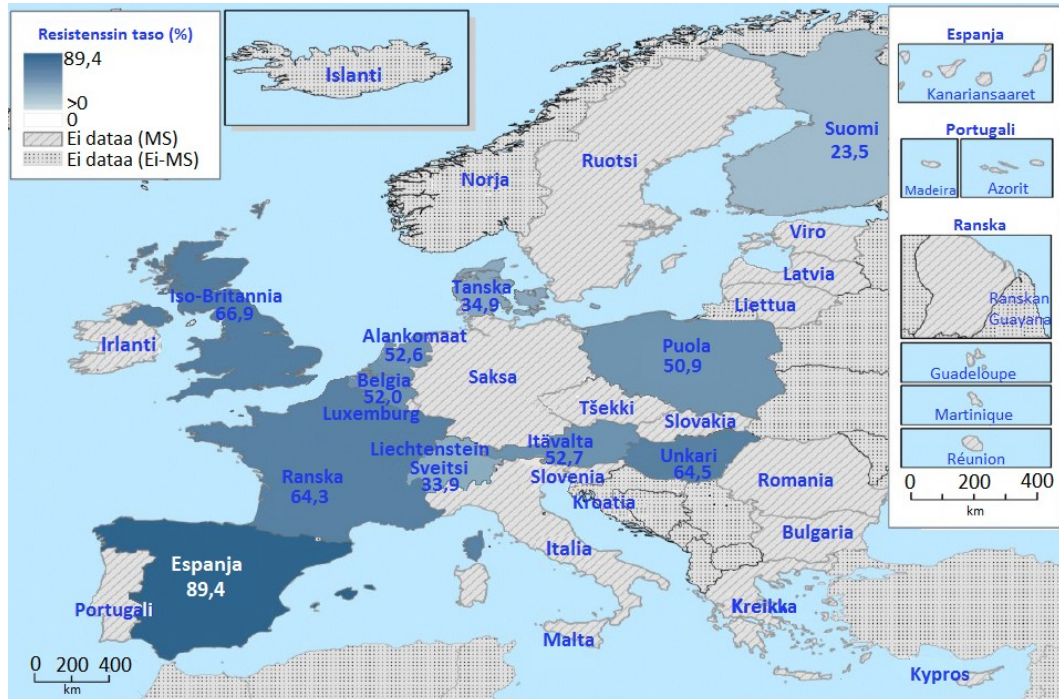


Kuva 12. Naudasta eristetyn *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso Euroopassa MIC-arvon perusteella vuonna 2012. Jos vuodelta 2012 ei ollut aineistoa saatavilla, käytettiin vuoden 2011 näytteiden tietoja. Espanjan tieto on vuodelta 2011. MS = jäsenvaltio, member state (muokattu: EFSA & ECDC, 2014).

Siasta eristetyn *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso vuonna 2013

Vuonna 2013 kvantitatiivista aineistoa sian *E. coli* -indikaattoribakteerin resistenssistä saatiin kymmeneltä EU-jäsenmaalta ja yhdeltä ei-jäsenmaalta (Sveitsiltä). Näytteet kerättiin pääsääntöisesti terveistä sioista teurastamolla. Kuvan 13 resistenssikarttaan on ilmoitettu resistenssitilanne vain niiden maiden osalta, joissa MIC-aineisto on saatu useammasta kuin 10 isolaatista. Jäsenmaissa (mukaan lukien Sveitsissä) todettu resistenssin esiintyvyys vaihteli korkeasta erittäin korkeaan välillä 23,5–89,4 % (EFSA & ECDC, 2015). Vuonna 2007 17,7 %:lla Suomessa sioista eristetyllä *E. coli* -indikaattorilla oli tetrasykliiniresistenssi (FINRES-Vet 2007–2009). Vuonna 2010 tetrasykliiniresistenssi oli puolestaan lisääntynyt hieman, 18,8 %. Tetrasykliiniresistenssi on ollut molempina vuosina

siasta eristettyjen *E. coli* -indikaattorien eniten todettu resistenssityyppi. Lisäksi resistenssitaso on kasvanut vuosien varrella. Tulos voi korreloida tetrasykliinien yleistä käyttöä sianlihatuotannossa Suomessa (FINRES-Vet 2010–2012).

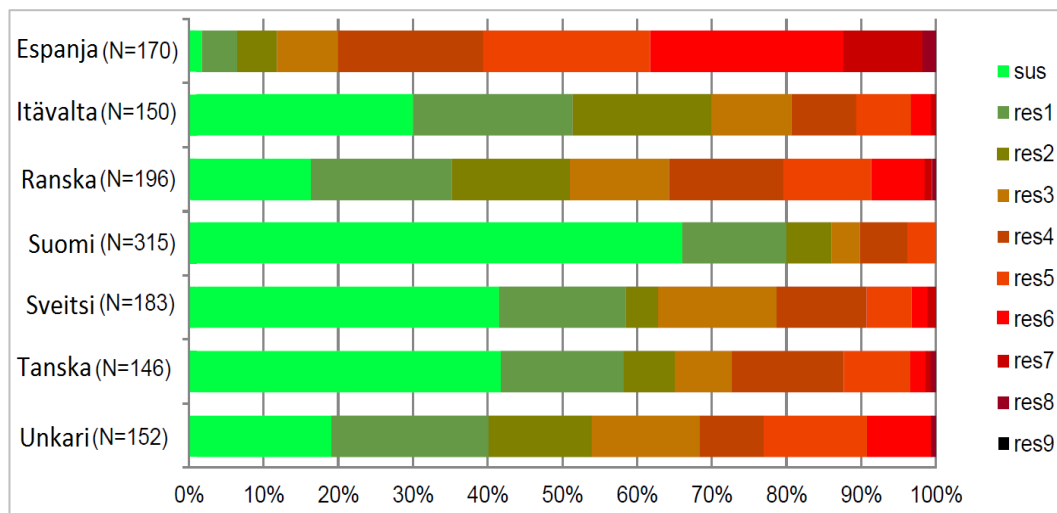


Kuva 13. Siasta eristetyn *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso Euroopassa MIC-arvon perusteella vuonna 2013. MS = jäsenvaltio, member state (muokattu: EFSA & ECDC, 2015).

Karttakuvista 12 ja 13 voi havaita, että Suomen naudoista ja sioista eristettyjen *E. coli* -indikaattoribakteerien resistenssin taso on matalin verrattuna muihin raportoineisiin maihin. Suomen suhteellisen hyvä resistenssitilanne johtuu luultavimmin mikrobilääkkeiden käytön tiukasta linjauksesta. Eläinten lääkitykseen tarkoitettuja mikrobilääkkeitä saa nimittäin vain eläinlääkäri reseptillä (FINRES-Vet 2010–2012) ja lääkkeiden käyttö on hallittua (Perkiömäki *et al.*, 2012).

Seitsemässä Euroopan maassa tutkittiin myös moniresistenssitaso (kuva 14) lihasioista eristetyistä *E. coli* -indikaattorista yhdeksällä mikrobilääkkeellä. Moniresistenssillä tarkoitetaan bakteerin alentunutta herkkyyttä kolmelle tai useammalle mikrobilääkkeelle. Moniresistenssitaso vaihteli kohtalaisesta erittäin korkeaan. Itävallassa, Sveitsissä ja Tanskassa noin 30,0–40,0 % näytteistä olivat

herkkiä tutkituille mikrobilääkkeille. Espanjassa, Ranskassa ja Unkarissa taso oli puolestaan alle 25 %. Espanjassa esiintyi eniten moniresistenttejä *E. coli* -indikaattoreita. Suomen lihasikojen *E. coli* -indikaattorin mikrobilääkeherkkyystilanne (66,0 %) oli paras raportoineista maista (EFSA & ECDC, 2015). Koska naudasta eristetyistä *E. coli* -indikaattoribakteerista oli vuonna 2012 raportoitu vain vähän moniresistenssitapauksia, vastaavaa kuvaajaa ei ole saatavilla (EFSA & ECDC, 2014).



Kuva 14. Lihasiasta eristetyin *E. coli* -indikaattorin moniresistenssin taso Euroopan maissa vuonna 2013. N = isolaattien lukumäärä, joiden herkkyyttä yleisiin mikrobilääkkeisiin (9 kpl) testattiin; sus = herkkä kaikille testatuille mikrobilääkkeille; res1–res9 = resistenssi yhdestä yhdeksään (1–9) testatuista mikrobilääkkeistä (muokattu: EFSA & ECDC, 2015).

6 Elintarvikkeiden kemiallinen riskinarviointi

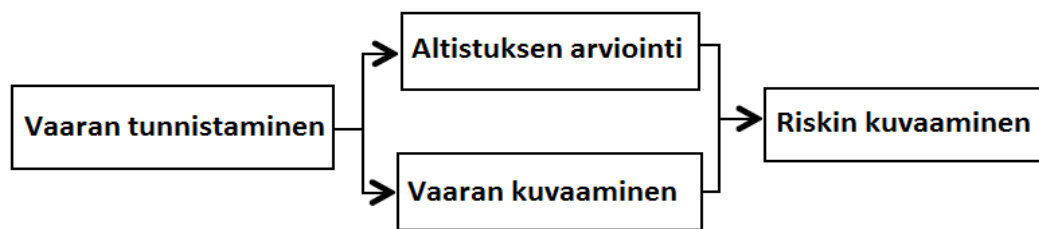
Elintarviketeollisuudessa saatetaan käyttää luonnollisia ja synteettisiä kemikaaleja parantamaan tuotteiden turvallisuutta ja laatua sekä vähentämään pilaantumista ja hukkaa. Alkutuotannossa käytetään mikrobilääkkeitä biologisten vaarojen vähentämiseksi. Toisaalta, kemikaalien käyttöön liittyy omat riskinsä, kuten niiden jäämät elintarvikkeissa ja myrkyllisyys. Tämän takia eläinlääkkeille on tehtävä riskinarviointi ennen markkinoille tuloa. Tavoitteena on turvata kuluttajan terveys ja ehkäistä epäasiallista toimintaa. Erityisenä haasteena ovat yhdisteet, joiden

vaikutukset havaitaan vasta pitkän ajan altistuksen jälkeen ja yhdisteet, jotka aiheuttavat pieniä, vaikeasti mitattavia haittoja (Moy, 2014).

Codex Alimentarius -komission määritelmän mukaan elintarvikkeiden riskinarviointi on osa riskianalyysin prosessia, johon kuuluu riskinarvioinnin lisäksi riskinhallinta ja riskiviestintä. Riskinarviointi on tieteellinen prosessi, jonka tavoite asetetaan tarkasti ja siihen pyritään vastaamaan (WHO & FAO, 2016). Se on riskin loogista, systemaattista ja näyttöön perustuvaa ymmärtämistä (Gorris, 2014). Riskinhallinnassa tehdään päätökset hallintakeinoista ottaen huomioon riskinarvioinnin tulokset. Riskinhallintatoimien tavoitteena on minimoida riskiä ja siten suojella kuluttajan terveyttä. Osaprosessien tulee olla läpinäkyviä ja dokumentoinnin tulee olla kaikkien osapuolten saatavilla. Riskinarviointi ja riskinhallinta tulee erottaa toiminnallisesti toisistaan, mikä varmistaa riskianalyysin objektiivisuuden. Toisaalta riskianalyysi on iteratiivinen prosessi, jossa riskiviestintä on välttämätöntä riskinarvioijien ja -hallitsijoiden välillä. Riskiviestinnän pääsääntöisenä tehtävänä tulee olla kaiken tiedon välittäminen eri osapuolten kesken tehokkaan päätöksentekoprosessin varmistamiseksi (WHO & FAO, 2016).

Riskinarviointi on nelivaiheinen prosessi (kuva 15), joka pohjautuu saatavilla olevaan tieteelliseen aineistoon, joka voi olla kvantitatiivista tai kvalitatiivista. Prosessiin kuuluu vaaran tunnistaminen, vaaran kuvaaminen, altistuksen arviointi ja riskin kuvaaminen (Anon., 2016a). Vaara on elintarvikkeessa tai elintarvikeryhmässä mahdollisesti esiintyvä biologinen, kemiallinen tai fysikaalinen tekijä, tai elintarvikkeen tila, joka voi aiheuttaa haitallisen terveysvaikutuksen. Riskillä tarkoitetaan vaaran aiheuttaman haittavaikutuksen todennäköisyyttä ja vakavuutta (WHO & FAO, 2016). Riskinarvioinnissa pyritään vastaamaan muun muassa seuraaviin kysymyksiin (Gorris, 2014):

- Mikä voi mennä väärin?
- Kuinka todennäköistä se on?
- Kuinka se voi tapahtua?
- Mitkä ovat seuraukset?



Kuva 15. Riskinarvioinnin päävaiheet (muokattu: McEwen, 2012b).

Riskinarvioinnin on pohjauduttava realistisiin altistustilanteisiin ottaen huomioon tuotanto-, säilytys- ja käsittelyolosuhteet läpi elintarvikeketjun. Riskinarvioinnin tulos ja mahdolliset vaihtoehdot tulee esittää ymmärrettävässä ja hyödyllisessä muodossa riskinhallitsijoita ja muita sidosryhmiä varten. Koska käytettävässä tiedossa on väistämättä rajoituksia, oletuksia ja epävarmuutta, niiden vaikutuksesta riskinarvioinnin tulokseen on kerrottava (WHO & FAO, 2016).

6.1 Vaaran tunnistaminen

Vaaran tunnistamisessa yksilöidään elintarvikkeessa tai elintarvikeryhmissä mahdollisesti esiintyvät kemialliset aineet, joilla saattaa olla terveydellisiä haittavaikutuksia (Anon., 2017f). Kemikaalit voivat olla joko tahallisesti lisättyjä, kuten lisä- ja väriaineet, tai kontaminantteja, kuten mikrobilääkejäämät (Gorris, 2014). Tässä riskinarvioinnin vaiheessa hyödynnetään kemikaalista löydettyä tieteellistä aineistoa, jonka pohjalta määritellään haitallisten terveysvaikutusten ja altistuksen välinen suhde. Lisäksi päätellään, onko haitallisten terveysvaikutusten esiintyminen ihmisessä todennäköistä. Kemikaalialtistukseen liittyviä terveysvaikutuksia ovat muun muassa erilaiset taudit, sisäelinvauriot, kehitysvajeet ja jopa syöpä, jotka voivat olla seurauksia joko lyhytaikaisesta tai pitkäkestoisesta altistuksesta. Vaaran tunnistamisessa voidaan hyödyntää myös eläinkokeista saatavaa tietoa ja tuloksia voidaan ekstrapoloida ihmiseen (Moy, 2014), mikä on kuitenkin erittäin haastavaa. Jokainen riskinarviointi alkaa vaaran tunnistamisella. Jos tässä vaiheessa havaitaan, ettei vaaraa ole, riskinhallitsijat voivat päättää riskinarvioinnin lopettamisesta (Gorris, 2014).

6.2 Vaaran kuvaaminen

Vaaran kuvaamisessa selvitetään kvalitatiivisesti ja/tai kvantitatiivisesti elintarvikkeessa mahdollisesti esiintyviin kemiallisiin aineisiin liittyvien terveydellisten haittavaikutusten ominaisuudet (Anon., 2017f). Siihen voi sisällyttää aikaisemman vaiheen, vaaran tunnistamisen, toksikologisten tutkimusten tuloksia. Tämä on konkreettinen esimerkki riskinarvioinnin iteratiivisuudesta: uuden aineiston saaminen vaikuttaa edellisen vaiheen tulokseen ja saattaa herättää uusia kysymyksiä (Moy, 2014).

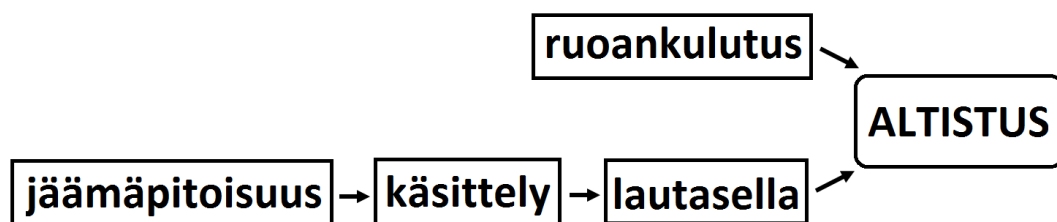
Kaikki kemialliset yhdisteet ovat myrkyllisiä, haittavaikutus riippuu annoskoosta. Annosvasteen lisäksi tarkoituksena on määrittää annoskoko, jolle eliniänmittainen altistuminen ei aiheuta terveydelle haitallisia vaikutuksia. Kyseistä arvoa kutsutaan hyväksyttäväksi päiväsaanniksi, ADI:ksi, joka ilmoitetaan kuluttajan painokiloa kohti. ADI johdetaan yleensä herkimmille eläinlajeille määriteltyyn Ei havaittavaa haittavaikutusta -tasoon (NOAEL, *No observed adverse effect level*), joka jaetaan epävarmuuskertoimella 100 ekstrapoloitaessa ihmiseen. Rakenteellisesti samanlaisille yhdisteille voi olla yhteinen ADI (Moy, 2014), kuten klooritetrasykliinille, oksitetrasykliinille ja tetrasykliinille 0–30 µg/kg_{bw} (JECFA, 2016). ADI-arvon lisäksi kemikaalit arvioidaan yleensä mahdollisen akuutin myrkyllisyyden takia. Jotkut yhdisteet voivat nimittäin aiheuttaa herkille kuluttajille haitallisen terveysvaikutuksen alle 24 tunnissa (Moy, 2014). Joidenkin kemikaalien akuutti myrkyllisyys ilmenee vasta niin korkeina pitoisuuksina, että sillä ei ole käytännön merkitystä.

6.3 Altistuksen arviointi

Altistuksen arvioinnissa määritetään elintarvikkeesta mahdollisesti saatavien kemiallisten aineiden altistumisannoksen ja niihin liittyvien terveydellisten haittavaikutusten voimakkuuden ja/tai esiintymistiheyden välinen suhde (Anon., 2017f). Altistuksen arviointi tapahtuu yksinkertaisimmillaan kertomalla

elintarvikkeen sisältämän kemikaalin pitoisuus syödyn ruoan määrällä. Jos samaa kemikaalia esiintyy useammassa eri ruoassa, kokonaisaltistus saadaan laskemalla niiden aiheuttamat altistukset yhteen. Lisäksi kemikaalille voi altistua ilman, veden tai maaperän välityksellä sekä muun muassa ihon ja suuhunpantavien ei-elintarvikkeiden (esim. lasten lelujen ja tupakan) kautta. Samalla tavalla toimivien yhdisteiden altistumiset tulee ottaa huomioon, jolloin saadaan kumulatiivinen altistuminen. Kemikaalin pitoisuuteen elintarvikkeessa vaikuttavat myös monet eri tekijät, kuten ruoan käsittely, ruoanvalmistus ja säilytys. Nämä on otettava huomioon, jotta altistuksen suuruudesta saataisiin mahdollisimman realistinen arvio (Moy, 2014).

Elintarvikkeen välityksellä saatavaa altistusta voidaan mallintaa tilastollisesti käyttämällä ruoan sisältämää jäämäpitoisuutta ja ruoankäyttöaineistoa (kuva 16). Tilastolliset mallit voivat olla joko deterministisiä tai todennäköisyyspohjaisia. Deterministisessä mallissa altistuminen lasketaan vain keskiarvolle sekä korkeimmalle prosenttipisteelle. Todennäköisyyspohjaisessa mallissa saadaan tarkempi kokonaiskuva altistuksen jakautumisesta. Siinä nimittäin otetaan huomioon ruoankäytön jakauma koko populaatiossa, jonka ruoankäyttöaineisto on saatavilla. Jos elintarvikkeen sisältämästä kemikaalijäämän pitoisuudesta on jakauma, sitä tulisi myös hyödyntää lyhytaikaisessa altistuksen arvioinnissa (Moy, 2014). Pitkäkestoisessa altistuksessa riittää kemikaalin keskiarvopitoisuus.



Kuva 16. Jäämäaltistuksen arviointiin vaikuttavia tekijöitä.

Eläinlääkkeiden kohdalla ensimmäiseksi arvioksi voidaan laskea teoreettinen maksimipäiväsaanti (TMDI, *theoretical maximum daily intake*), koska se on nopea

tapa arvioida altistusta. Tässä laskentatavassa oletetaan elintarvikkeen jäämäpitoisuuden olevan MRL:n verran. Tästä syystä saadaan merkittävästi yliarvioitu altistus. Laskettua altistusarviota verrataan ADI-arvoon (Moy, 2014).

6.4 Riskin kuvaaminen

Riskin kuvaamisessa arvioidaan tunnettujen tai mahdollisten tietyssä väestönosassa esiintyvien haittavaikutusten esiintymistodennäköisyys ja voimakkuus kvalitatiivisesti ja/tai kvantitatiivisesti (Anon., 2017f). Riskiestimaatin teossa yhdistetään edellisten vaiheiden eli vaaran tunnistamisen, vaaran kuvaamisen ja alistuksen arvioinnin tulokset sekä huomioidaan epävarmuustekijät. Lisäksi tähän vaiheeseen voi kuulua riskin kuvailuja, riskinhallintakeinojen arviointia sekä niiden muutoksen vaikutusta riskin suuruuteen. Riskinhallintakeinoja arvioitaessa huomioidaan kuluttajien näkemys vaarasta ja verrataan keinon hyötyjä ja haittoja sekä riskejä (Gorris, 2014).

KOKEELLINEN OSIO

7 Kokeellisen osion tavoitteet

Tuotantoeläinten bakteeri-infektoiden hoidossa voidaan käyttää oksitetrasykliiniä sisältävää mikrobilääkettä. Tämän työn kokeellisen osion tavoitteena oli arvioida kyseisen lääkityksen vaikutusta kuluttajaan kohdistuvaan mahdolliseen jäämältistukseen siasta ja naudasta saatavien elintarvikkeiden välityksellä. Tarkastuksen alaisena olevia elintarvikkeita olivat naudan- ja sianliha, naudanmaksa sekä maito ja raakamaito. Lisäksi arvioitiin sianlihasta prosessoitujen tuotteiden (makkaran, kinkun ja pekonin) välityksellä tapahtuvaa altistusta. Muita altistuslähteitä, kuten maaperää, vesistöä ja ilmaa, ei huomioida tässä tutkimuksessa. OTC-jäämät eivät välttämättä ole kovinkaan suuria elintarvikkeissa, mutta ne ovat itsessään ikäviä. Kuluttajat toivovat välttävänsä ne.

Oksitetrasykliinijäämien aiheuttamien mahdollisten terveyshaittojen vaikuttavuutta arvioidaan kvalitatiivisesti. Mitä suurempia jäämäpitoisuudet ovat elintarvikkeessa, sitä suuremman terveysriskin se aiheuttaa kuluttajalle. Maidon vierasainevalvontanäytteiden jäämätuloksista ei saatu pitoisuusjakaumatietoja, sillä ne jäivät alle toteamisrajan. Nollanäytteiden käsittelyssä hyödynnettiin tutkimusmenetelmien toteamisrajoja. Koska varsinaisia tilastoja jäämäpitoisuuksista ei ole saatavilla, pyrittiin ne arvioimaan kirjallisuudenpohjalta farmakokineettisin mallein. Pahimman tilanteen (*worst case scenario*) arviossa altistuksen arviointiin käytettiin MRL-arvoa eli elintarvikkeen enimmäisjäämäpitoisuutta. Tämä kuvaa teoreettista maksimipäiväsaantia, mikä voi kuitenkin olla yliarvio todellisen altistumisen suuruudesta. Myös lämpökäsittelyiden vaikutukset jäämien vähenemiseen otettiin huomioon, jotta saataisiin mahdollisimman totuudenmukaisia tuloksia. Sianlihasta prosessoitujen tuotteiden eriävien prosessointilämpötilojen ja tiedonpuutteen vuoksi,

oksitetrasykliinin vähenemää lämpökäsittelyissä ei ole otettu huomioon. Altistusarvioissa hyödynnettiin suomalaisten keskiverto- ja suurkuluttajien ruoankäyttötietoa. Arvioituja teoreettisia maksimipäiväsaanteja verrattiin oksitetrasykliinin ADI-arvoon riskin laadun arvioimiseksi. Laskelmissa ei ole huomioitu maidon sisältämän oksitetrasykliinijäämän laimentumista prosessissa, jossa mahdollisesti jäämäpitoinen maito sekoitetaan mikrobilääkkeettömään. Samaa prosessoinnin aiheuttamaa jäämän laimentumista tapahtuu myös jauhelijan, makkaran ja kinkun tuotannossa eikä sitäkään otettu huomioon.

Kuluttajien mahdollisen oksitetrasykliinijäämän teoreettisen maksimipäiväsaannin lisäksi tarkastellaan tetrasyklinejä sisältävien tuotantoeläimille tarkoitettujen mikrobilääkkeiden käyttöä myyntitilastoista sekä *E. coli* -indikaattoribakteerin resistenssitilannetta Euroopassa. Tämän pohjalta pyritään arvioimaan tuontilihan aiheuttamaa tetrasykliinijäämääriskiä.

8 Materiaali ja perusaineisto

Tässä diplomityössä tarkastellaan suomalaisten kuluttajien naudanlihan ja -maksan, maidon sekä sianlihan ja siitä prosessoidun makkaran, kinkun ja pekonin käyttöä EFSA:n ruoankäyttötietokannasta (Anon., 2016b). Lisäksi hyödynnetään kirjallisuuden pohjalta löytyvää tietoa oksitetrasykliinin jäämäpitoisuuteen vaikuttavista tekijöistä, kuten eläimen farmakokinetiikasta ja elintarvikkeiden lämpökäsittelyistä. Käytettävänä ovat myös naudoista ja sioista eristetyn *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssin tilannekatsaukset vuosilta 2012 ja 2013 sekä Euroopan maiden tetrasykliinimikrobilääkkeiden kulutustiedot aikaväliltä 2011–2014. Lisäksi aineistoon kuului Suomen kansallisen maidon vierasainevalvonnan analyysitulokset aikaväliltä 20.9.2011–24.2.2016 sekä Luonnonvarakeskuksen (Luken) Minkiön koenautatilan lääkekirjanpito ajalta 6.5.2010–30.4.2015.

8.1 Sian- ja naudanlihan sekä lehmänmaidon tuotanto ja kulutus Suomessa

Suomalaisten lyhyen aikavälin ruoankäyttöaineisto vuosilta 2000–2012 on peräisin EFSA:n tietokannasta (Anon., 2016b). Taulukossa 3 esitetään tutkimukset ja projektit, joissa ruoankäyttöaineisto on kerätty. Lisäksi taulukkoon on koottu tutkimusten perustiedot, kuten kuinka paljon tutkittavia oli kustakin ikäryhmästä (Anon., 2017b). Jos samasta elintarvikkeesta on samasta ikäluokasta useampi käyttötieto, niistä on laskettu aritmeettinen keskiarvo.

Taulukko 3. Suomalaiset tutkimukset, joista ruoankäyttötiedot ovat peräsin. Tutkimukseen osallistuneiden määrä ilmoitettu ikäluokittain (muokattu: Anon., 2017b).

Vuosi	Tutkimus	Tutkittavien lukumäärä						
		Ikä vuosina						
		Yht.	< 1	1–2	3–6	10–17	25–64	65–74
2000	STRIP ¹⁾	250			250			
2001	DIPP 01-09 ²⁾	1 750	500	500	750			
2003	DIPP 03-06 ²⁾	1 448		500	948			
2007	FinRavinto07 ³⁾	2 038					1 575	463
	NWSSP07-08 ⁴⁾	306				306		
2012	FinRavinto12 ³⁾	1 708					1 295	413

¹⁾ Sepelvaltimotaudin riskintekijöiden interventioprojekti

²⁾ Diabeteksen ennustaminen ja ehkäisy -projekti

³⁾ FinRavinto-tutkimukset vuosilta 2007 ja 2012, suomalaisen aikuisväestön ruoankäyttö ja ravinnonsaanti

⁴⁾ Seitsemäsluokkalaisten ruoankäyttö ja ravinnonsaanti

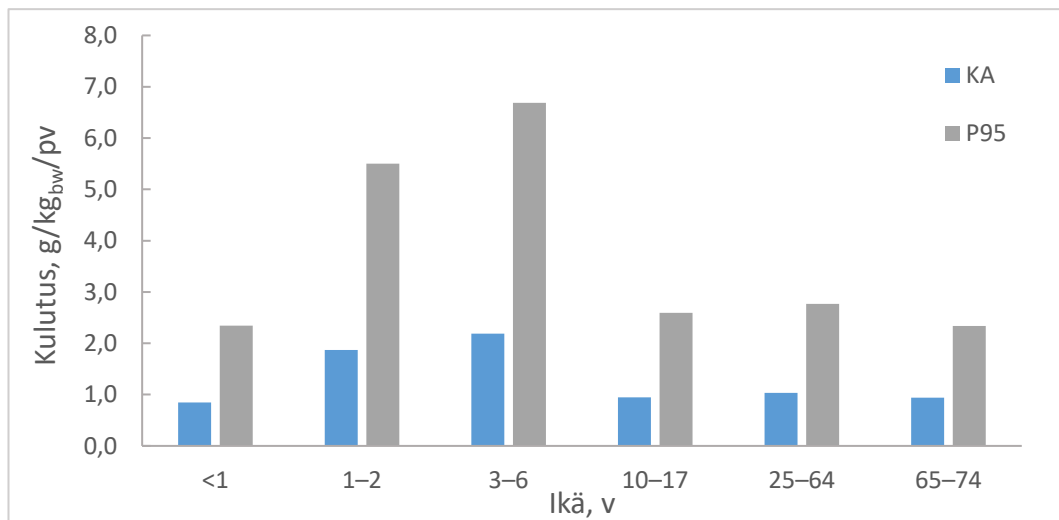
Elintarvikkeiden kulutus kuluttajan painokiloa kohti on esitetty kuvaajissa 17–23. Kuvaajia vertailtaessa toisiinsa on otettava huomioon, että kulutuksen asteikko vaihtelee elintarvikkeittain. Tarkemmat kulutustiedot ovat koottuina liitteen 1 taulukoihin 1 ja 2. Lisäksi Luken tilastoista saadaan vertailtavaksi elintarvikkeiden keskimääräinen kulutus vuositasolla henkeä kohti (Anon., 2017c).

Altistuslaskelmat on tehty keskiverto- ja suurkuluttajille, jotta nähtäisiin, kuinka paljon keskitasoisesta kulutuksesta saatava OTC-altistus eroaa suurkulutuksesta saatavasta altistuksesta. Keskivertokuluttajien (KA) kulutus on määritelty kulutukseksi, joka vastaa koko tutkitun ryhmän keskimääräistä kulutusta. Suurkuluttajien (P95) kulutus on puolestaan kulutusjakauman 95.

prosenttipisteessä, mikä tarkoittaa, että 95 %-lla tutkimukseen osallistuneista on enintään sen suuruinen kulutus.

Sianliha

Vuonna 2015 Suomessa tuotettiin 192 miljoona kiloa sianlihaa (teurastamoissa tai maataloilla teurastettua, elintarvikekelpoista lihaa), mikä on 3 % enemmän kuin edellisvuonna (Anon., 2016f). Luullista sianlihaa kulutettiin vuonna 2015 keskimäärin 35,1 kg/a/hlö (Anon., 2017c), josta saadaan syötävän lihan määrä, kun luullisesta lihasta vähennetään luiden osuus eli keskimäärin 20 % (Anon., 2017g). Kuvassa 17 esitetään sianlihan päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan sianlihan kulutus on noin 33–40 % suurkuluttajan kulutuksesta. Suhteellisesti suurin kulutus on 3–6-vuotiailla, joiden päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on noin 2,19 g/kg_{bw} ja suurkuluttajana puolestaan 6,69 g/kg_{bw}. Vähiten sianlihaa kuluttavat nuoret (10–17-vuotiaat) sekä vanhukset (65–74-vuotiaat) (Anon., 2016b).

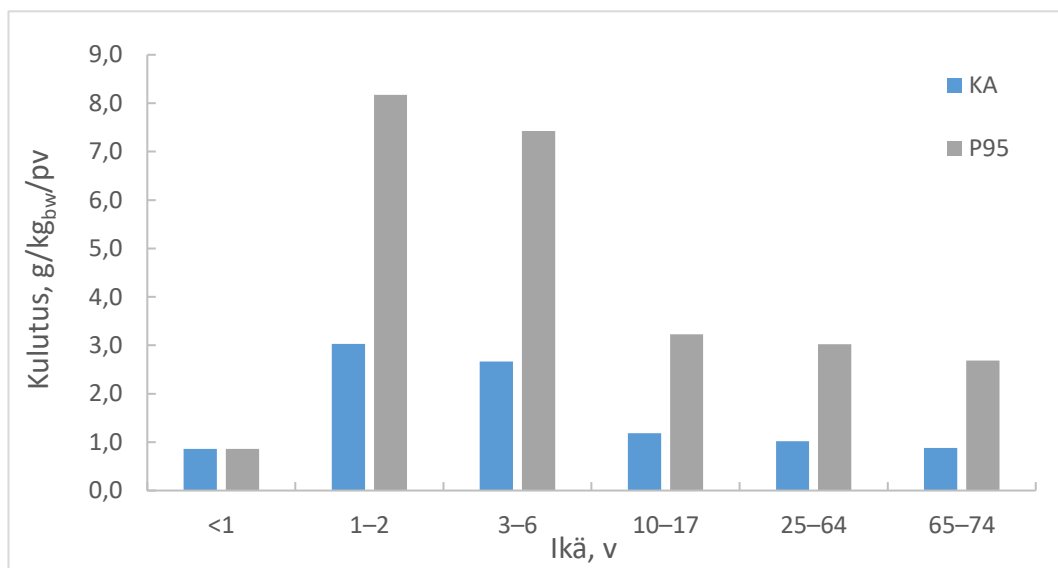


Kuva 17. Sianlihan lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = Keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Sianlihasta valmistetaan myös prosessoituja tuotteita, joissa lihaprosentti saattaa vaihdella. Lisäksi ne käyvät läpi erilaisia kuumennuskäsittelyitä, joiden vaikutusta altistuksen suuruuteen ei ole otettu huomioon tiedonpuutteen vuoksi. Makkaran

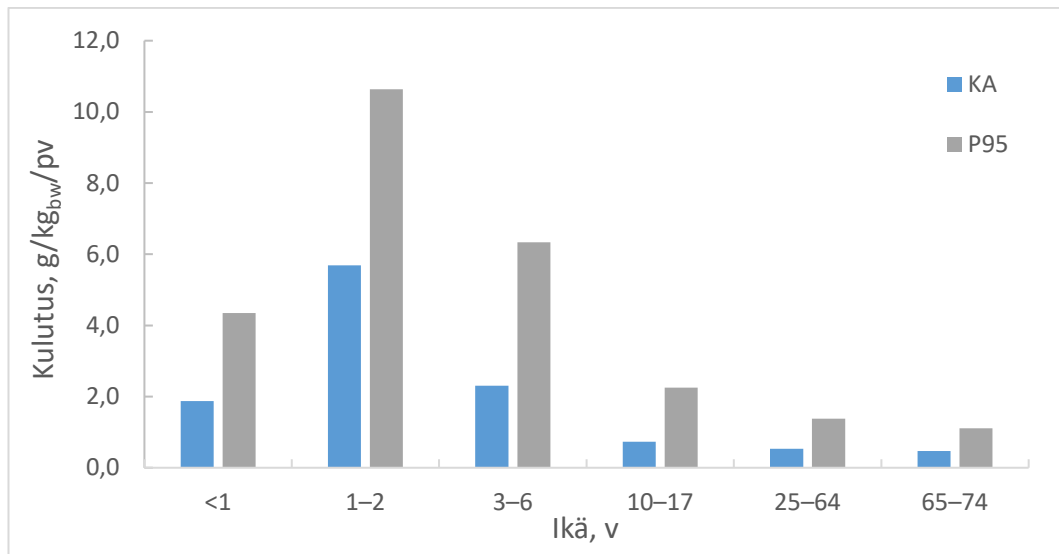
kulutustiedoissa on huomioitu kaikki makkaratyypit: kypsennetyt, savustetut, kuivatut, tuoreet, puolikuivat sekä kypsentämättömät makkarat.

Kuvassa 18 esitetään sianlihasta valmistettujen makkaroiden päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan makkarankulutus on noin 33–37 % suurkuluttajan kulutuksesta. Suurin suhteellinen kulutus on 1–2-vuotiailla, joiden päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on noin 3,03 g/kg_{bw} ja suurkuluttajana puolestaan 8,17 g/kg_{bw}. Nuorten, aikuisten (25–64-vuotiaat) ja vanhusten makkarankulutus ovat lähestulkoon yhtä suuret. Vähiten makkaraa kuluttavat alle yksivuotiaat (0,86 g/kg_{bw}) ja se perustuu vain yhdeltä kuluttajalta saatuun tietoon, joten se kuvaa huonosti tätä ikäryhmää (Anon., 2016b).



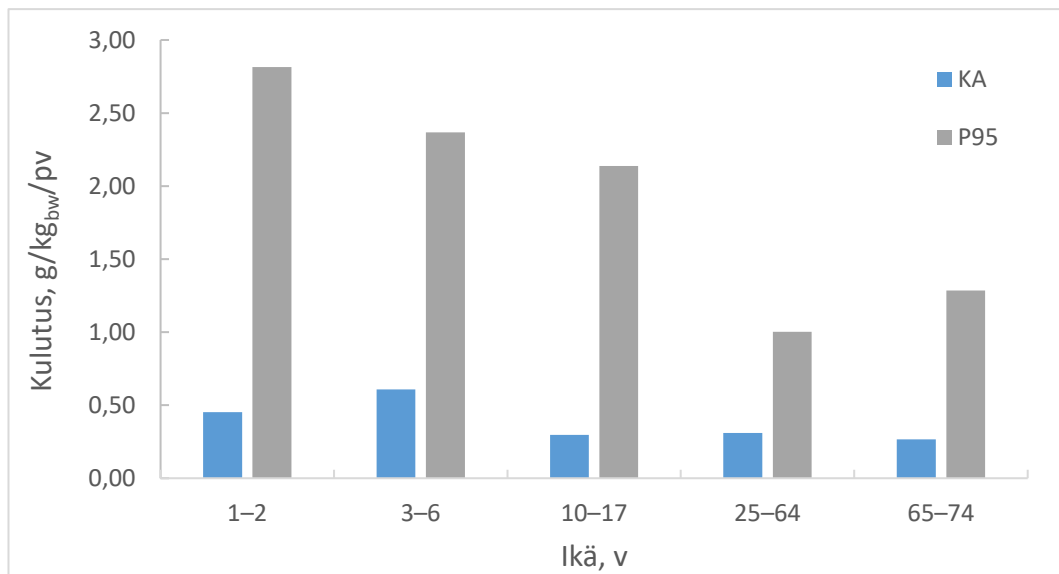
Kuva 18. Makkarankulutuksen lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = Keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Kuvassa 19 havainnollistetaan kinkun päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan kinkun kulutus on noin 32–53 % suurkuluttajan kulutuksesta. Suurin suhteellinen kulutus on 1–2-vuotiailla, joiden päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on noin 5,69 g/kg_{bw} ja suurkuluttajana puolestaan 10,63 g/kg_{bw}. Vähiten kinkkua kuluttavat vanhuksat (Anon., 2016b).



Kuva 19. Kinkun lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

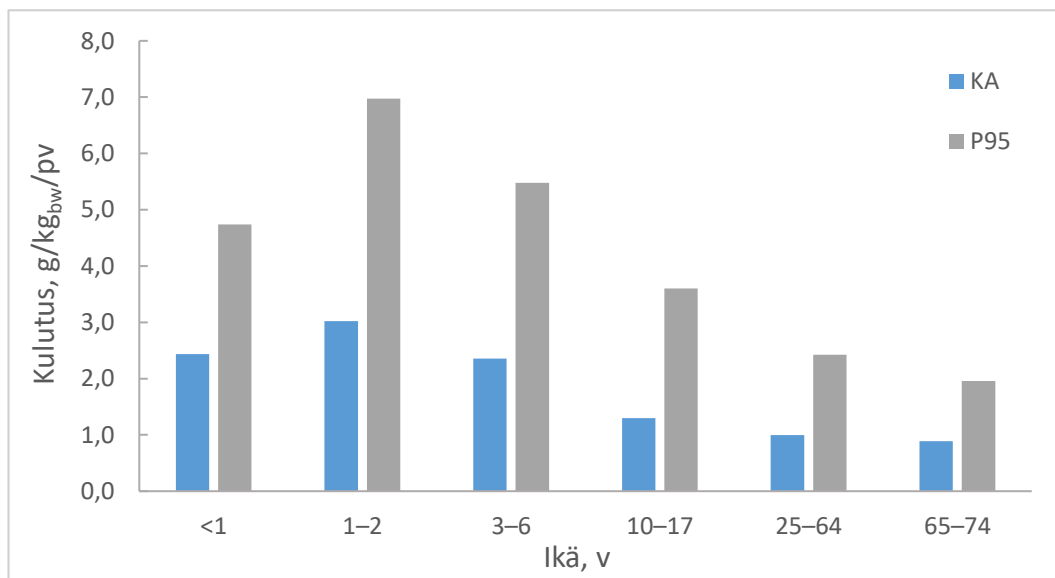
Kuvassa 20 näkyy pekonin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan pekonin kulutus on noin 13,8–25,7 % suurkuluttajan kulutuksesta. Taaperoiden (1–2-vuotiaiden), nuorten, aikuisten ja vanhusten keskivertokulutus ovat lähestulkoon yhtä suuria, 0,27–0,45 g/kg_{bw}. Muiden lasten (3–6-vuotiaiden) keskivertokulutus on noin 0,61 g/kg_{bw}. Suurkulutus vaihteli välillä 1,0–2,82 g/kg_{bw} (Anon., 2016b).



Kuva 20. Pekonin lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Naudanliha ja -maksa

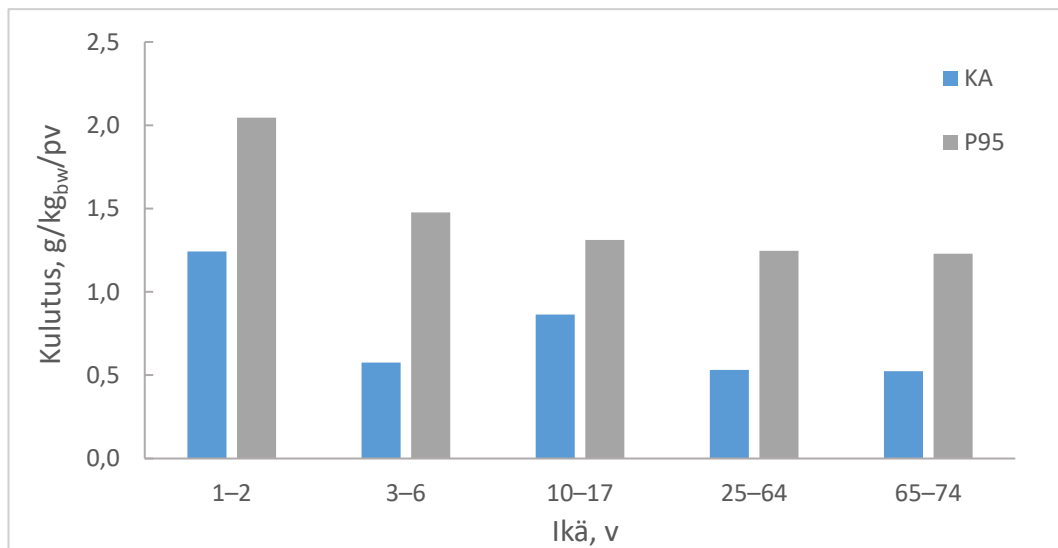
Naudanlihaa (teurastamoissa tai maataloilla teurastettua, elintarvikekelpoista lihaa) tuotettiin vuonna 2015 86 miljoonaa kiloa eli 4 % enemmän kuin edellisvuonna (Anon., 2016g). Luullista naudanlihaa kulutettiin vuonna 2015 keskimäärin 19,2 kg/a/hlö (Anon., 2017c), josta saadaan syötävän lihan määrä, kun luullisesta lihasta vähennetään luiden osuus eli keskimäärin 20 % (Anon., 2017g). Kuvassa 21 esitetään naudanlihan päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan naudanlihan kulutus on noin 36–51 % suurkuluttajan kulutuksesta. Suhteellisesti suurin kulutus on 1–2-vuotiailla, joiden päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on 3,02 g/kg_{bw} ja suurkuluttajana puolestaan 6,98 g/kg_{bw}. Vähiten naudanlihaa kuluttavat vanhukset (Anon., 2016b).



Kuva 21. Naudanlihan lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Kuvassa 22 esitetään naudanmaksan päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Tutkituista alle yksivuotiaiden joukosta kukaan ei kuluta naudanmaksaa. Keskivertokuluttajan naudanmaksan kulutus on noin 39–66 % suurkuluttajan kulutuksesta. Painoon suhteutettuna kulutus on suurinta 1–2-vuotiailla, joiden päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on 1,24 g/kg_{bw} ja

suurkuluttajana 2,05 g/kg_{bw}. Muiden ikäryhmien nautanmaksan kulutus on lähestulkoon yhtä suurta (Anon., 2016b).



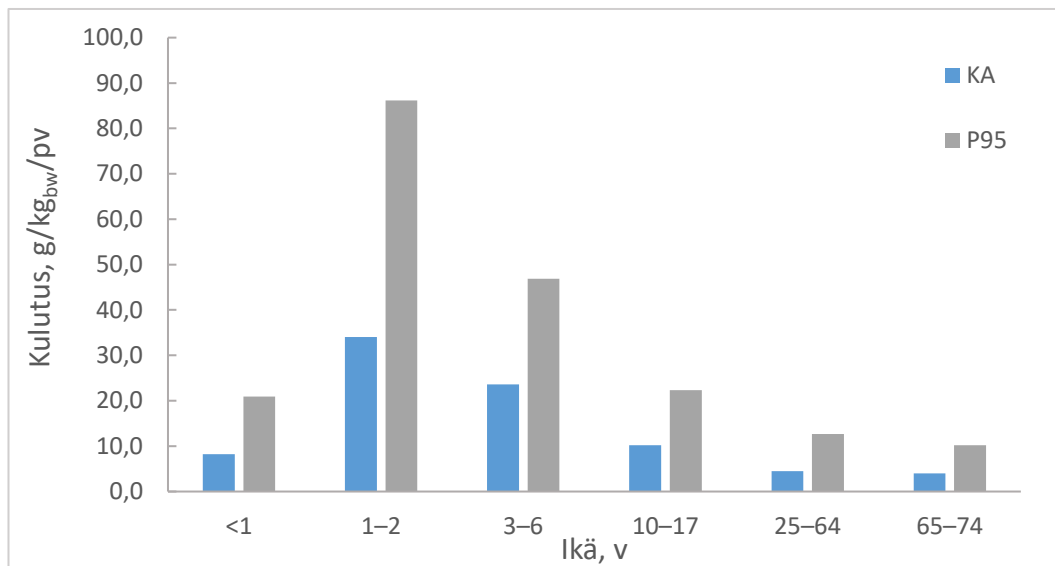
Kuva 22. Nautanmaksan lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = Keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Lehmänmaito ja raakamaito

Maitoa tuotettiin vuonna 2015 noin 2 325 miljoonaa litraa, mikä on vajaa 2 % enemmän kuin edellisvuonna (Anon., 2017a). Vuonna 2015 täysmaitoa, kevytmaitoa ja rasvatonta maitoa kulutettiin 11,7 kg/a/hlö, 66 kg/a/hlö ja 48 kg/a/hlö, samassa järjestyksessä. Raakamaidon kulutus vuonna 2015 oli edellä mainittuihin maitolaatuihin verrattuna hyvin vähäistä eli keskimäärin 1,3 kg/a/hlö (Anon., 2017c). Lisäksi kulutus on jakautunut epätasaisesti tiettyyn käyttäjäkuntaan (Perkiömäki *et al.*, 2012). Koska raakamaidosta ei ole saatavilla käyttötietoja ikäryhmittäin, altistuksen arvioinnissa käytettiin maidon suurkuluttajien aineistoa kulutustottumuksista. Valitettavasti maidon suurkuluttajatkään eivät kuvaa kattavasti suomalaisten raakamaidon käyttöä, joten raakamaidon välityksellä tapahtuva tässä työssä arvioitu mahdollinen altistuminen oksitetrasykliinille ei välttämättä kerro todellista tilannetta.

Kuvassa 23 esitetään lehmänmaidon päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden lyhyellä aikavälillä. Keskivertokuluttajan maidon kulutus on noin 35–50 %

suurkuluttajan kulutuksesta. Maidon suhteellinen kulutus on suurinta 1–2-vuotiaden keskuudessa. Heidän päivittäiskulutus keskivertokuluttajana on 34,04 g/kg_{bw} ja suurkuluttajana 86,15 g/kg_{bw}. Vähiten maitoa kuluttavat aikuiset ja vanhuks (Anon., 2016b). Raakamaidon kulutuksessa käytetään maidon suurkuluttajien aineistoa.



Kuva 23. Lehmänmaidon lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohden eri ikäryhmissä. KA = Keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: Anon., 2016b).

Kun tarkastellaan kaikkia yllä mainittujen elintarvikkeiden kulutuskäyttäytymistä, 1–2-vuotiaat nousevat selkeästi esille muihin ikäryhmiin verrattuna. He kuluttavat eniten naudanlihaa ja -maksaa, makkaraa, kinkkua sekä lehmänmaitoa painoonsa nähden. Sianlihan ja pekonin keskivertokulutuksen kohdalla 3–6-vuotiaat ovat puolestaan suurin kuluttajaryhmä. Lisäksi kuvaajista 17–23 nähdään, että suurkuluttajat syövät kyseisiä elintarvikkeita yleisesti ottaen kaksinkertaisen määrän keskivertokuluttajaan verrattuna. Pekonin suurkuluttajan ja keskivertokuluttajan välinen ero on suurin, suurkuluttajat kuluttavat noin 4–7-kertaisen määrän keskivertokuluttajiin nähden. Kyseisten elintarvikkeiden välityksellä tapahtuva oksitetrasykliinijäämiin altistuminen on suoraan verrannollinen kulutuksen kanssa, joten kulutuskäyttäytymisestä voi päätellä, miten altistuminen eroaa ikäryhmittäin.

8.2 Oksitetrasykliinin farmakokinetiikka

Oksitetrasykliinillä hoidetuista tuotantoeläimistä saatavissa elintarvikkeissa voi mahdollisesti olla jäämiä käytetyistä lääkkeistä. Jäämien määrittämiseksi on tehty tutkimuksia, joissa on selvitetty, kuinka OTC käyttäytyy eläimen eri kudoksissa. Kliinisistä tutkimuksista tai simulaatioista saatuja farmakokineettisiä parametreja käytetään matemaattisissa malleissa pääsääntöisesti mallintamaan eläimen plasman OTC-pitoisuutta eri ajanhetkillä. Tässä diplomityössä tarkastellaan kirjallisuuden avulla oksitetrasykliinin käyttäytymistä siassa ja naudassa kaksi- ja kolmitilamalleilla sekä ensimmäisen asteen kinetiikan mallilla. Lisäksi kun tiedetään missä suhteessa oksitetrasykliini jakautuu plasman ja tietyn kudoksen välillä, voidaan arvioida kudoksessa oleva OTC-pitoisuus.

Kun käytetään erilaisia farmakokineettisiä malleja erilaisten arvojen laskemiseen, on syytä pitää mielessä, että tutkimuksista saadut parametrit ovat eläinyksilöstä riippuvaisia. Lisäksi kliinisissä tutkimuksissa käytetyt eläimet ovat useimmiten terveitä, joissa oksitetrasykliinin jakautuminen eri kudoksiin eroaa sairaista eläimistä. Lääkeaineen käyttäytymiseen vaikuttaa myös monet muut tekijät. Tämän takia farmakokineettisistä malleista ei saada täysin todellisuutta vastaavaa tilannetta oksitetrasykliinillä hoidetuista tuotantoeläimistä. Kyseessä ovat siis teoreettiset mallit, joista saadaan suuntaa-antavia tuloksia.

8.3 Tetrasykliinikäyttö ja -resistenssitilanne Euroopassa

EMA:n tekemissä ESVAC-raporteissa (EMA, 2016) esitellään Euroopan maiden tuotantoeläimiin käytettyjen mikrobilääkkeiden myyntiä eläinpopulaatioon suhteutettuna. Koska raporteissa ei eritellä kullekin tuotantoeläinlajille käytettyjen mikrobilääkkeiden myyntiä, eläinlajikohtaista vertailua maiden välillä ei pystytä tekemään. Kuvassa 6 esitellään tetrasykliiniä sisältävien mikrobilääkkeiden myynnin kehittymistä Euroopan maissa vuosina 2011–2014 (EMA, 2016; EMA, 2015; EMA, 2014; EMA, 2013).

EFSA ja ECDC seuraavat Euroopan maiden resistenssitilannetta ja julkaisevat asiaan liittyen kattavat raportit. Tässä diplomityössä tarkastellaan naudasta vuonna 2012 (kuva 12) ja siasta vuonna 2013 (kuva 13) eristetyn *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssin tasoa.

Diplomityössä käytetyn Minkiön koenautatilan lääkekirjanpito ajalta 6.5.2010–30.4.2015 osoittaa, että Minkiössä käytettiin 27 kertaa oksitetrasykliinimikrobilääkettä sairastuneille naudoille. Kaiken kaikkiaan sairaustapauksia oli samalla aikavälillä 785. Tämä tarkoittaa, että koetilalla vajaa 3,5 % sairaustapauksista hoidettiin oksitetrasykliinillä. Lisäksi suurin osa hoidetuista naudoista olivat vasikoita. Oksitetrasykliiniä sisältäviä mikrobilääkkeitä käytettiin muun muassa nivel- ja napatulehduksen sekä vasikoiden hengitystietulehduksen ja vasikkaripulin hoidossa. Lisäksi seitsemässä tapauksessa oksitetrasykliiniä käytettiin määrittelemättömän sairauden (”Muu sairaus”) hoitoon. Hengitystietulehduksen ja *Mycoplasma bovis* -bakteerin aiheuttaman niveltulehduksen hoitoon tulisi käyttää ensisijaisesti oksitetrasykliiniä. Napatulehdukseen sekä *Truepella pyogens* - ja *E. coli* -bakteerin aiheuttamaan niveltulehdukseen oksitetrasykliini on toissijaisena hoitona. Vasikkaripulin hoitoon oksitetrasykliiniä ei puolestaan suositella (Evira & HY ELTDK, 2016).

9 Tutkimusmenetelmät ja tutkimuksen suoritus

Tutkimuksen laskelmat on suoritettu Excel®-taulukonlaskentaohjelmalla. Farmakokineettisillä malleilla lasketaan plasman OTC-pitoisuus, josta voidaan ekstrapoloida lihan ja maksan OTC-pitoisuus. Koska tuloksista havaittiin, että jäämäpitoisuudet ovat erittäin alhaisia, niille ei suoritettu lopullista kuluttajaan kohdistuvaa altistuslaskelmaa. Naudasta ja siasta saatavien elintarvikkeiden välityksellä tapahtuvassa oksitetrasykliinin teoreettisessa maksimipäiväsaannissa raakojen elintarvikkeiden OTC-alkupitoisuutena käytettiin MRL-tasoa. Maidon

jäämäpitoisuuksissa hyödynnettiin myös maidon vierasainevalvontaohjelmassa käytetyn kemiallisen analyysin määritysrajoja. Altistuslaskelmissa huomioitiin vielä lämpökäsittelyt sekä eri ikäryhmien ruoankäyttötiedot tarkasteltavista elintarvikkeista. Sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekonin välityksellä tapahtuvassa altistuksessa ei huomioitu lämpökäsittelyiden vaikutusta jäämäpitoisuuteen tiedonpuutteen vuoksi.

9.1 Oksitetrasykliinin farmakokinetiikka sioissa ja naudoissa

Eläimen mikrobilääkehoidon aikana OTC-pitoisuuden mittaaminen on useimmiten mahdollista vain plasmasta. Tästä syystä muiden kudosten, kuten lihan ja maksan, lääkepitoisuus tulee ekstrapoloida plasman pitoisuudesta (Kivistö & Neuvonen, 2001). Haritova ja Fink-Gremmels simuloivat eri mikrobilääkkeiden jakautumista plasman ja lihan välillä oletuksella, että lääke jakautuu tasaisesti lihaan. Sekä sialle että naudalle simuloinnissa arvioitiin oksitetrasykliinin jakautuvan lihan ja plasman välillä suhteessa 0,72. Arvo on alle yhden, mikä tarkoittaa, että lihan OTC-pitoisuus on alhaisempi kuin plasman (Haritova & Fink-Gremmels, 2010).

Landoni ja Errecalde tutkivat puolestaan pitkävaikutteisen OTC-lääkkeen jakautumista vasikan eri kudosten välillä. Tutkimuksissa saatiin tulokseksi, että OTC-pitoisuus vasikanmaksassa on 4,16-kertainen verrattuna plasman pitoisuuteen. Arvo on yli yhden, mikä tarkoittaa, että maksan OTC-pitoisuus on korkeampi kuin plasman (Landoni & Errecalde, 1992). Koska lääkkeenä käytettiin pitkävaikutteista OTC-lääkettä, tulos yliarvioi hieman maksan OTC-pitoisuutta tavanomaiseen lääkeversioon verrattuna. Tutkimuksessa arvioitiin myös lihan sisältämää OTC-pitoisuutta, mutta pitkävaikutteisen lääkeversion takia arvoa ei huomioitu jäämäpitoisuuksien arvioinnissa tässä diplomityössä.

Sian ja naudon plasman OTC-pitoisuutta iv-kertainjektion jälkeen estimoitiin ensin farmakokineettisten mallien avulla. Kun plasman pitoisuus oli saatu selville, mallinnettiin kudosten OTC-pitoisuus yllämainituista tutkimuksista saatujen lihan

ja maksan OTC-jakautumisen arvojen avulla. On kuitenkin syytä pitää mielessä, että eläimen eri kehonosan lihan vesi- ja rasvapitoisuus vaihtelee. Tämän lisäksi lääkkeen jakautumiseen eri kudosten välillä vaikuttavat käytetyn lääkkeen muut ainesosat ja annoskoko sekä eläimen rotu ja ikä (Haritova & Fink-Gremmels, 2010). Tässä työssä farmakokineettinen mallinnus suoritettiin kirjallisuuteen perustuen.

Kaksitilamalli

Kaksitilamallissa hyödynnettiin kaavoja 7 ja 8 laskettaessa eläimen plasman OTC-pitoisuus ajan funktiona. Kun lisäksi otettiin huomioon, miten OTC jakautuu kudoksen (lihan tai maksan) ja plasman kesken, saatiin selville, miten OTC käyttäytyy kudoksessa. Taulukkoon 4 on koottu kirjallisuudesta saatujen terveiden vasikoiden ja sikojen farmakokineettisten parametrien keskiarvot. Annostuksista 50 mg/kg ylittää ohjeannostuksen, mutta sen avulla voidaan tarkastella, yliannostuksen jakautumista eläimessä.

Taulukko 4. Oksitetrasykliinin kaksitilamallin farmakokineettiset parametrit (A, α , B ja β) vasikalla ja sialla iv-kertainjektion jälkeen. SD = keskihajonta.

Annostus mg/kg	Eläin	A μg/ml	SD _A	α h ⁻¹	SD _{α}	B μg/ml	SD _B	β h ⁻¹	SD _{β}
10	Vasikka ⁱ⁾	37,38	1,70	2,66	0,22	10,42	2,88	0,10	0,03
10	Sika ⁱⁱ⁾	8,97	1,97	1,35	0,34	5,31	0,67	0,13	0,01
50	Sika ⁱⁱ⁾	63,70	7,07	1,02	0,08	22,70	0,57	0,12	0,01

Parametrien keskiarvot laskettu seuraavista lähteistä: ⁱ⁾ Kumar & Malik, 2003 (ikä: 4–6 kk, massa: 60–75 kg); Kumar & Malik, 1999 (4–6 kk, KA 70 kg); Toutain & Raynaud, 1983 (KA 17,2 pv, KA 50 kg); ⁱⁱ⁾ Pijpers *et al.*, 1990 (ikä ei tiedossa, 35–45 kg).

Sijoittamalla taulukon 4 kaksitilamallin farmakokineettiset parametrit kaavaan 7 saadaan seuraavat vasikan ja sian plasman OTC-pitoisuutta kuvaavat kaksitilamallin kaavat 15–17.

Vasikoille, joille annettiin oksitetrasykliiniä 10 mg/kg iv-kertainjektiona, OTC-pitoisuus plasmassa käyttäytyy kaksitilamallin mukaan seuraavasti (Kumar & Malik, 2003; Kumar & Malik, 1999):

$$C_t = 37,38 \cdot e^{-2,66 \cdot t} + 10,42 \cdot e^{-0,10 \cdot t} \quad (15)$$

Sioille, joille annettiin oksitetrasykliiniä saman verran kuin yllämainituille vasikoille eli 10 mg/kg iv-kertainjektiona, plasman OTC-pitoisuus eri ajanhetkinä on kaksitilamallin mukaan (Pijpers *et al.*, 1990):

$$C_t = 8,97 \cdot e^{-1,35 \cdot t} + 5,31 \cdot e^{-0,13 \cdot t} \quad (16)$$

Sioille, joille annettiin oksitetrasykliiniä yli suositusten eli 50 mg/kg iv-kertainjektion verran, plasman OTC-pitoisuus eri ajanhetkinä käyttäytyy seuraavasti (Pijpers *et al.*, 1990):

$$C_t = 63,70 \cdot e^{-1,02 \cdot t} + 22,70 \cdot e^{-0,12 \cdot t} \quad (17)$$

Kolmitilamalli

Oksitetrasykliinin käyttäytymistä pikkuporsilla ja lypsylehmillä on kirjallisuudessa tutkittu kolmitilamalliin pohjautuen. Kaavoilla 18–20 voi laskea kyseisten eläinten OTC-pitoisuus plasmassa. Kun otetaan huomioon, miten lääkeaine jakautuu kudosten ja plasman välillä, saadaan selville pikkuporsaan ja lypsylehmän kudosten lääkeainepitoisuus eri ajanhetkinä.

Pikkuporsaille (ikä: 10 vk; massa: 14,5–17,3 kg), joille annettiin oksitetrasykliiniä 20 mg/kg iv-kertainjektiona, plasman OTC-pitoisuuden havaittiin käyttäytyvän kolmitilamallin mukaisesti seuraavalla tavalla (Mevius *et al.*, 1986b):

$$C_t = 61,6 \cdot e^{-3,07 \cdot t} + 9,0 \cdot e^{-0,19 \cdot t} + 0,74 \cdot e^{-0,051 \cdot t} \quad (18)$$

Lypsylehmille (ikä: ei tiedossa, massa: 415–733 kg), joille annettiin oksitetrasykliiniä 5 mg/kg IV-kertainjektiona, saatiin puolestaan seuraavat kolmitilamallin kaavat kuvaamaan OTC-pitoisuutta plasmassa (Nouws *et al.*, 1985; Mevius *et al.*, 1986a):

$$C_t = 31,05 \cdot e^{-3,18 \cdot t} + 5,98 \cdot e^{-0,294 \cdot t} + 3,03 \cdot e^{-0,075 \cdot t} \quad (19)$$

$$C_t = 36,1 \cdot e^{-3,72 \cdot t} + 6,80 \cdot e^{-0,36 \cdot t} + 2,41 \cdot e^{-0,076 \cdot t} \quad (20)$$

Koska lypsylehmille on kaksi lähes samanlaista kaavaa, niiden avulla lasketuista pitoisuuksista otettiin aritmeettiset keskiarvot.

Ensimmäisen asteen kineettinen malli

Tässä mallissa hyödynnettiin kirjallisuuden pohjalta saatuja kaksitilamallin parametreja määritettäessä OTC- alkupitoisuus plasmassa (kaava 8) ja eliminaation nopeusvakio (kaava 9). Tästä syystä ensimmäisen asteen kineettisen mallin tarkastelu tehdään vasikoille ja sioille. Ensimmäisen asteen kineettisen mallin parametrit on koottu taulukkoon 5.

Taulukko 5. Oksitetrasykliinin ensimmäisen asteen kineettisessä mallissa tarvittavia parametreja (C_0 ja k_{el}). SD = keskihajonta.

Annostus mg/kg	Eläin	C_0 µg/ml	k_{el} h ⁻¹	SD _{kel}
10	Vasikka ⁱ⁾	47,80	0,37	0,07
10	Sika ⁱⁱ⁾	14,27	0,29	0,03
50	Sika ⁱⁱ⁾	86,40	0,35	0,04

Keskiarvot laskettu kaksitilamallin parametrien avulla seuraavista lähteistä: ⁱ⁾ Kumar & Malik, 2003 (ikä: 4–6 kk, massa: 60–75 kg); Kumar & Malik, 1999 (4–6 kk, KA 70 kg); Toutain & Raynaud, 1983 (KA 17,2 pv, KA 50 kg); ⁱⁱ⁾ Pijpers *et al.*, 1990 (ikä ei tiedossa, 35–45 kg).

Kun taulukon 5 parametrit sijoitetaan ensimmäisen asteen kineettiseen malliin (kaava 3), saadaan seuraavat vasikan ja sian plasman OTC-pitoisuutta kuvaavat ensimmäisen asteen kinetiikan mallin kaavat 21–23:

Vasikoille, joille annettiin oksitetrasykliiniä 10 mg/kg iv-kertainjektiona, OTC-pitoisuus plasmassa ensimmäisen asteen kinetiikan mukaisesti on seuraava (Kumar & Malik, 2003; Kumar & Malik, 1999):

$$C_t = 47,80 \cdot e^{-0,37 \cdot t} \quad (21)$$

Sioille, joille annettiin oksitetrasykliiniä 10 mg/kg iv-kertainjektiona, plasman OTC-pitoisuus on ensimmäisen asteen kineettisen mallin mukaisesti seuraava (Pijpers *et al.*, 1990):

$$C_t = 14,27 \cdot e^{-0,29 \cdot t} \quad (22)$$

Sioilla, joille annettiin oksitetrasykliiniä yli suositusten eli 50 mg/kg iv-kertainjektion verran, OTC-pitoisuus käyttäytyy plasmassa ensimmäisen asteen kineettisen mallin mukaisesti puolestaan seuraavalla tavalla (Pijpers *et al.*, 1990):

$$C_t = 86,40 \cdot e^{-0,35 \cdot t} \quad (23)$$

9.2 Määritysrajan alapuolelle jäävien pitoisuuksien käsittely

Maidon kansallisessa vierasainevalvontaohjelmassa vuosina 2011–2016 otetuista maitonäytteistä ei todettu oksitetrasykliiniä. Tämä ei kuitenkaan tarkoita varmuudella, etteikö näytteissä olisi ollut jäämiä kyseisestä mikrobilääkkeestä. Analyyseillä on määritysrajansa, jonka alapuolelle jääneitä pitoisuuksia ei pystytä toteamaan. Tästä syystä maidon välityksellä saatavaa mahdollista OTC-altistusta on hyvä tarkastella myös analyysimenetelmien määritysrajojen puitteissa. Vuosina 2011–2016 maidon mikrobilääkejäämien kemiallisen analyysin määritysraja on vaihdellut oksitetrasykliinille välillä 5–50 µg/kg.

9.3 Oksitetrasykliinialtistuksen arviointi

Oksitetrasykliinin altistuslaskelmat suoritettiin Excel®-taulukonlaskentaohjelmassa. Laskelmissa otettiin huomioon raa'an elintarvikkeen oksitetrasykliinin alkupitoisuus ja lopulliseen altistuksen suuruuteen vaikuttava mahdollinen lämpökäsittely (taulukko 6) Sianlihasta valmistetuissa makkaroissa, kinkussa ja pekonissa vastaavaa lämpökäsittelyn vaikutusta OTC-pitoisuuden vähenemää ei otettu huomioon tiedonpuutteen vuoksi. Tarkemmat kuvaukset valmistustavasta ja lämpökäsittelyistä löytyvät seuraavista lähteistä: naudanlihalle ja -maksalle (Rose *et al.*, 1996), sianlihalle (Nquyen *et al.*, 2013) sekä maidolle (Kellnerová *et al.*, 2014; Shahani, 1958). Tutkimuksissa saatuja vähenemiä voidaan käyttää, koska oksitetrasykliinin alkupitoisuudella ei ole havaittu olevan vaikutusta lämpökäsittelyssä tapahtuvaan prosentuaaliseen vähenemiseen (Shahani, 1958). Lisäksi hyödynnettiin lyhyen aikavälin ruoankäyttötilastoa kulutustottumuksista eri ikäryhmiltä (Anon., 2016b). Kuva 16 havainnollistaa altistuslaskelmien etenemistä.

Taulukko 6. Valmistuksen ja lämpökäsittelyiden vaikutus oksitetrasykliinin pitoisuuteen elintarvikkeissa. t = aika, T_{sis} = ruoka-aineen sisäinen lämpötila, $C_{\text{OTC},i}$ = OTC-alkupitoisuus, $C_{\text{OTC},f}$ = OTC-loppupitoisuus.

Ruoka-aine	Menetelmä	t min	T_{sis} °C	$C_{\text{OTC},i}$ µg	$C_{\text{OTC},f}$ µg	Vähennelmä %
Naudanliha ⁱ⁾	Paistaminen uunissa	36	98	86,5	5,3	93,87
	Grillaaminen	8	59	206	168,0	18,45
	Paisto pannulla	14	84	59,5	32,6	45,21
Naudanmaks ⁱ⁾	Paisto pannulla	24	62	154,6	54,6	64,68
Sianliha ⁱⁱ⁾	Uppopaisto öljyssä	3	93,4	0,91	0,55	39,56
		9	97,0	0,91	0,41	54,95
Maito	Kuumennus ⁱⁱⁱ⁾	30	62	0,40–1,29 ^{a)}	-	23,60
		30	71	0,89 ^{a)}	0,64 ^{a)}	31,50
		30	85	0,89 ^{a)}	0,31 ^{a)}	64,69
	Pastörointi ^{iv)}	3 ^{b)}	85	163,28 ^{c)}	138,29 ^{c)}	15,30

Lähteet: ⁱ⁾ Rose *et al.*, 1996, ⁱⁱ⁾ Nguyen *et al.*, 2013, ⁱⁱⁱ⁾ Shahani, 1958, ^{iv)} Kellnerová *et al.*, 2014
Yksikkö poikkeaa ilmoitetusta: ^{a)} µg/ml ^{b)} s ^{c)} µg/l

Naudan- ja sianlihan (ml. makkaran, kinkun ja pekonin), naudanmaksan ja lehmänmaidon välityksellä tapahtuvissa OTC-altistuksissa käytettiin elintarvikkeiden MRL-arvoa lääkejäämän alkupitoisuutena. Lihassa ja maidossa oksitetrasykliinin maksimijäämäpitoisuus saa olla korkeintaan 100 µg/kg, maksan vastaava arvo on puolestaan 300 µg/kg. Tällä tavoin tehdyt laskelmat ovat teoreettisia maksimipäiväsaanteja (TMDI) eli kuluttaja söisi juuri varoajan päättyessä teurastetun tuotantoeläimen lihaa tai siitä saatua maitoa, jossa voi olla vielä MRL:n verran oksitetrasykliiniä. Maidon välityksellä tapahtuvaa OTC-altistumista tarkastellaan myös maidon vierasainevalvonnan kemiallisen analyysin määräysrajoilla, jotka vaihtelivat oksitetrasykliinille välillä 5–50 µg/kg vuosina 2011–2016 suoritetuissa analyyseissä.

10 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Tämän luvun ensimmäisessä kappaleessa esitellään kirjallisuuteen pohjautuvien farmakokineettisten mallien tulokset OTC-pitoisuudesta sian- ja naudanlihassa sekä naudanmaksassa ajan funktiona. Mallintamisen tarkoituksena on arvioida oksitetrasykliinin käyttäytymistä eläimessä yhden iv-injektion jälkeen ja kuinka nopeasti MRL-taso saavutetaan. Seuraavaksi käydään läpi tässä diplomityössä tehty arvio naudasta ja siasta saatavien elintarvikkeiden välityksellä tapahtuvat oksitetrasykliinin teoreettiset maksimipäiväsaannit eri kuluttajaryhmille. Altistuslaskelmissa on huomioitu lämpökäsittelyn vaikutus lopulliseen OTC-pitoisuuteen elintarvikkeessa. Sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekonin prosessoinnissa ja kypsennyksessä käytettävien lämpökäsittelyiden vaikutusta altistuksen suuruuteen ei ole huomioitu tiedonpuutteen vuoksi.

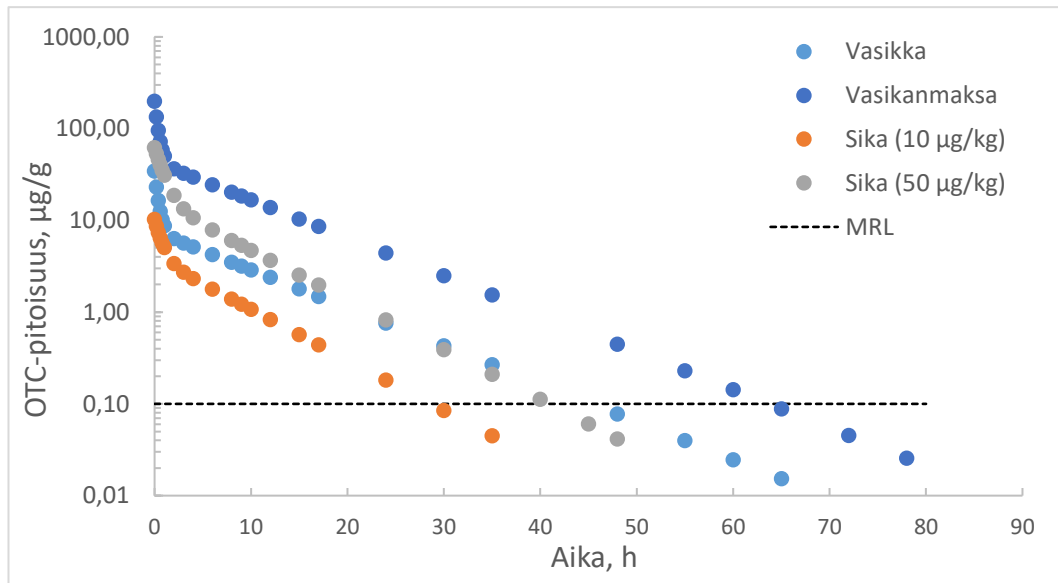
10.1 Naudan ja sian OTC-pitoisuus farmakokineettisillä malleilla

Oksitetrasykliinin käyttäytymistä plasmassa arvioidaan kirjallisuuden pohjalta kaksi- ja kolmitilamalleilla sekä ensimmäisen asteen kineettisellä mallilla yhden iv-injektion jälkeen. Sekä naudan- että sianlihan OTC-pitoisuus on 0,72-kertainen plasman pitoisuuteen verrattuna. Vasikanmaksan OTC-pitoisuus on puolestaan 4,16-kertainen plasmaan verrattuna, mutta tämän arvon määrittämisessä on käytetty pitkävaikutteista OTC-mikroilääkettä. Lisäksi arvioidaan, kuinka nopeasti kudoksen OTC-pitoisuus saavuttaa MRL-tason. Lihan sallittu maksimijäämäpitoisuus on 0,1 µg/g ja maksan puolestaan 0,3 µg/g. Kuvaajia 24–26 tarkasteltaessa on syytä huomata, että kudoksen OTC-pitoisuutta kuvaavan akselin asteikko on logaritminen.

Kaksitilamalli

Kaksitilamallin kaavoja 15–17 käyttämällä saadaan vasikan ja sian plasman OTC-pitoisuus. Kun huomioon otetaan vielä oksitetrasykliinin jakautuminen lihan ja

plasman (0,72) sekä maksan ja plasman (4,16) välille, voidaan arvioida kyseisten kudosten OTC-pitoisuutta kaksitilamallin avulla iv-kertainjektion jälkeen (kuva 24).



Kuva 24. Kaksitilamallilla saatu logaritminen OTC-pitoisuus vasikan- ja sianlihassa sekä vasikanmaksassa ajan funktiona iv-kertainjektion (vasikka 10 µg/kg) jälkeen. Katkoviiva kuvaa lihan MRL-tasoa. Huom. maksan MRL-arvo on 0,3 µg/g.

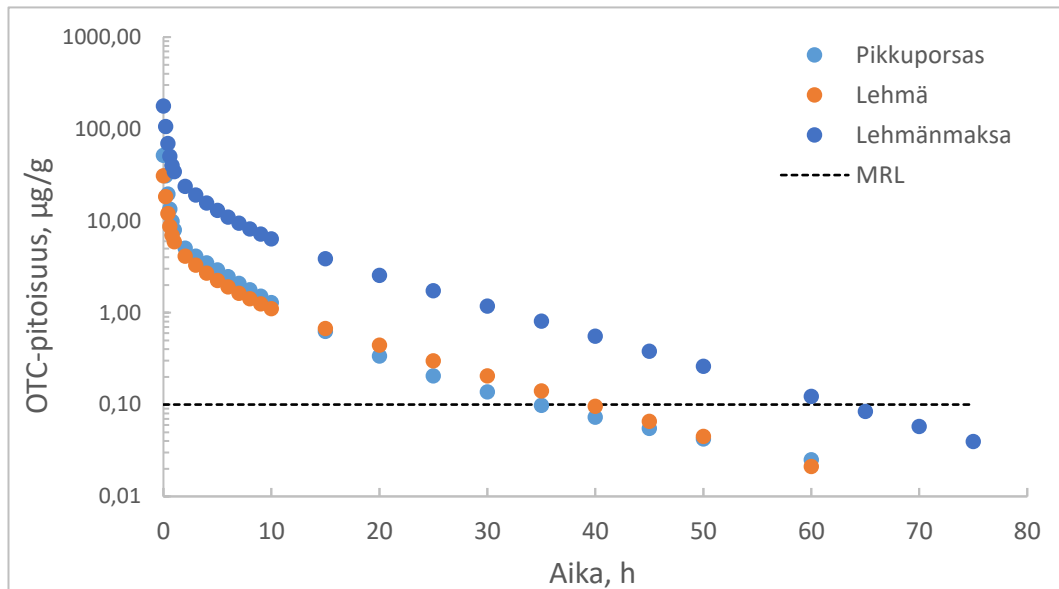
Kuva 24 esittää kaksitilamallilla havainnollistettua oksitetrasykliinin käyttäytymistä vasikan- ja sianlihassa sekä vasikanmaksassa iv-kertainjektion jälkeen. Sama annostus (10 µg/kg) oksitetrasykliiniä vasikassa ja siassa poistuu siasta nopeammin kuin vasikasta, sillä sian OTC-pitoisuuskäyrä on jyrkempi kuin vasikan. Kuten kirjallisuudessakin on todettu, oksitetrasykliini kerääntyy maksaan ja poistuu sieltä hitaasti. Toisaalta on pidettävä mielessä, että maksa:plasma-jakautumissuhde on saatu pitkävaikutteisesta OTC-mikrotilääkettä käytettäessä.

Kaksitilamallinnuksesta nähdään, että kudosten OTC-pitoisuus laskee alle MRL-tason melko nopeasti. Vasikanlihan OTC-pitoisuus laskee alle MRL-tason 45,3 tunnin kuluttua iv-kertainjektion antamisesta, ja sianlihassa puolestaan 28,7 tunnissa (10 µg/kg annos) ja 40,9 tunnissa (50 µg/kg annos). Vasikanmaksan OTC-pitoisuus saavuttaa MRL-tason (0,3 µg/g) 52,2 tunnissa. Nämä puolestaan

viittaavat siihen, että varoajan päätyttyä jäämäpitoisuus on mitättömän pieni mahdollisen terveysriskin kannalta.

Kolmitilamalli

Kolmitilamallin kaavoja 18–20 käyttämällä saadaan pikkuporsaan ja lehmän plasman OTC-pitoisuus. Kun huomioon otetaan vielä oksitetrasykliinin jakautuminen lihan ja plasman (0,72) sekä maksan ja plasman (4,16) välille, voidaan arvioida kyseisten kudosten OTC-pitoisuutta kolmitilamallin avulla iv-kertainjektion jälkeen (kuva 25).



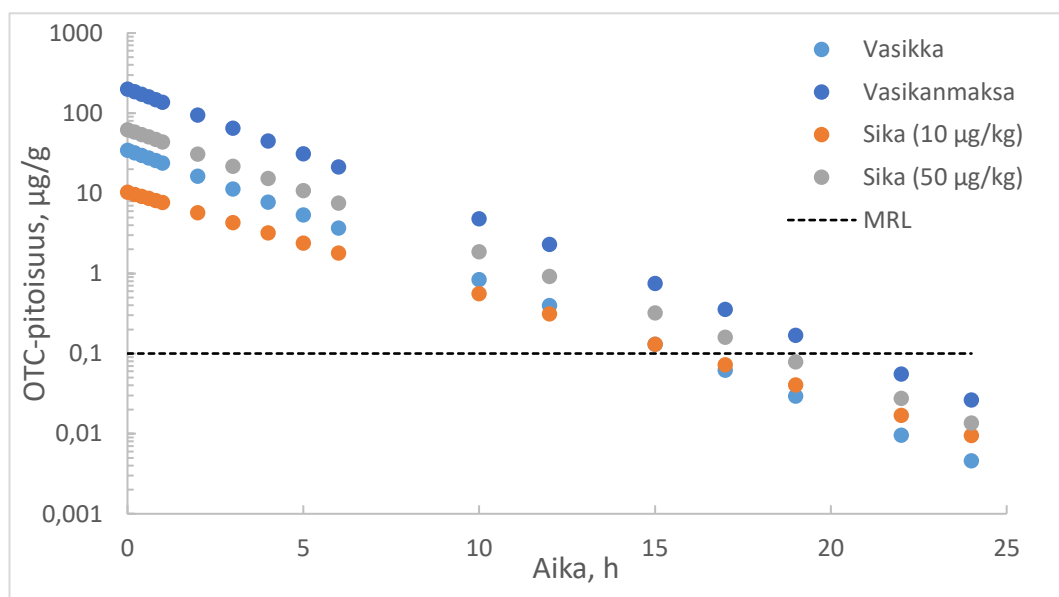
Kuva 25. Kolmitilamallilla saatu logaritminen OTC-pitoisuus pikkuporsaan ja lehmänlihassa sekä lehmänmaksassa ajan funktiona iv-kertainjektion (pikkuporsas 20 µg/kg ja lehmä 5 µg/kg) jälkeen. Katkoviiva kuvaa lihan MRL-tasoa. Huom. maksan MRL-arvo on 0,3 µg/g.

Kuva 25 esittää kolmitilamallilla havainnollistettua oksitetrasykliinin käyttäytymistä pikkuporsaan- ja lehmänlihassa sekä lehmänmaksassa iv-kertainjektion jälkeen. On mielenkiintoista todeta, että pikkuporsaan- ja lehmänlihan OTC-pitoisuus käyttäytyvät lähestulkoon samalla tavalla, vaikka pikkuporsaille on annettu nelinkertainen lääkeannos verrattuna lehmiin. Lisäksi voidaan todeta, että OTC-pitoisuus laskee alle MRL-tason melko nopeasti. Pikkuporsaanlihassa OTC-pitoisuus laskee alle MRL-tason 34,6 tunnin kuluttua iv-kertainjektion antamisesta ja lehmänlihassa puolestaan 39,4 tunnissa.

Lehmänmaksan OTC-pitoisuus laskee alle MRL-tason hieman hitaammin eli 48,1 tunnissa iv-kertainjektioista. On hyvä kuitenkin pitää mielessä, että maksaan ekstrapoloinnissa on käytetty vasikalle pitkävaikutteisen OTC-lääkityksestä määritettyä maksa:plasma-suhdetta.

Ensimmäisen asteen kineettinen malli

Ensimmäisen asteen kinetiikan mallissa käytetään kaavoja 21–23, joiden parametrien arvot (plasman alkupitoisuus sekä eliminaation nopeusvakio) on laskettu kaksitilamallin parametrien avulla. Kun huomioon otetaan vielä oksitetrazykliinin jakautuminen lihan ja plasman (0,72) sekä maksan ja plasman (4,16) välille, voidaan arvioida kyseisten kudosten OTC-pitoisuutta ensimmäisen asteen kineettisen mallin avulla iv-kertainjektion jälkeen (kuva 26).



Kuva 26. Ensimmäisen asteen kineettisellä mallilla saatu logaritminen OTC-pitoisuus vasikan- ja sianlihassa sekä vasikamaksassa ajan funktiona iv-kertainjektion (vasikka 10 mg/kg) jälkeen. Katkoviiva kuvaa lihan MRL-tasoa. Huom. maksan MRL-arvo on 0,3 µg/g.

Kuva 26 esittää ensimmäisen asteen kineettisellä mallilla havainnollistettua oksitetrazykliinin käyttäytymistä vasikan- ja sianlihassa sekä vasikanmaksassa iv-kertainjektion jälkeen. OTC-pitoisuus laskee lineaarisesti ajan suhteen logaritmisella pitoisuusasteikolla. Tämän mallin mukaan kaikissa tutkituissa

kudoksissa, jopa yliarvioidussa vasikanmaksassa, OTC-pitoisuus laskee MRL-tasoon alle vuorokaudessa (15,7–18,3h).

Koska kaksitilamallissa ja ensimmäisen asteen kineettisessä mallissa on estimoitu kudosten OTC-pitoisuutta samoilla eläimillä, jotka ovat saaneet samansuuruisen lääkeannostuksen, voidaan tuloksia vertailla keskenään. Kaksitilamallia käyttäessä OTC-pitoisuus laskee kudoksissa hitaammin kuin ensimmäisen asteen kineettisessä mallissa. Lisäksi kolmitilamallissa, jossa lehmälle oli annettu puolet pienempi annos oksitetrasykliiniä verrattuna vasikkaan, OTC-pitoisuus lihassa laski paljon maltillisemmin kuin kahdella muulla mallilla kuvattu vasikanlihan OTC-pitoisuus. Toisaalta, kyseiset eläimet ovat eri-ikäisiä ja eri-painoisia, mikä voi puolestaan vaikuttaa lääkejäämien erittymiseen. Jos käytetyt mallit ovat luotettavia ja kuvaavat oksitetrasykliinin käyttäytymistä infektoituneen tuotantoeläimen elimistössä, huoli OTC-jäämistä tuotantoeläimistä saaduissa elintarvikkeissa ei ole aiheellinen. OTC-pitoisuudet nimittäin laskivat farmakokineettisten mallien perusteella alle MRL-tason paljon ennen varoajan päättymistä. Valitettavasti malleissa on kuitenkin estimoitu vain kertainjektion käyttäytymistä, sillä joidenkin infektioiden hoito vaatii useamman lääkityskerran hoitojakson aikana. Lisäksi mallinnuksessa käytetyt parametrit on saatu vain muutamasta tutkimuksesta, jotka on suoritettu terveillä eläimillä, mikä tuo tulokseen epävarmuutta. Malleista saataisiin tarkempia ja luotettavampia, jos sairaiden eläinten parametreista olisi saatavilla kattava ja yksityiskohtaisempi aineisto.

Tässä työssä kohteena olleessa Minkiön koetilalla naudoille oli annettu useamman kerran OTC-mikrobilääkkeitä. Vain yhdestä lehmänmaidosta (lehmälle annettu kaksi kertaa OTC- ja kaksi kertaa OTC LA -lääkettä hoitojakson aikana) oli käytettävissä analyysituloksia lääkkeen annosta varoajan jälkeiseen aikaan. Varoajan jälkeen maidon OTC-pitoisuus oli alle mittausalueen alarajan eli 33 µg/kg, mikä on huomattavasti alle maidon MRL-tason (100 µg/kg).

10.2 Oksitetrasykliinin maksimipäiväsaannin arviointi

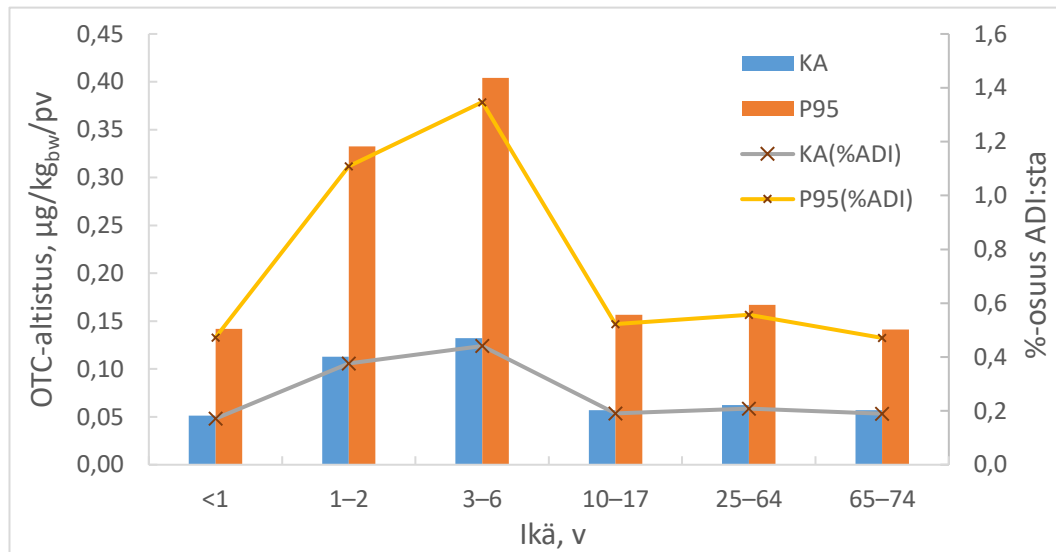
Tuotantoeläinten OTC-lääkehoitojen aiheuttamaa kuluttajien mahdollista jäämäältistusta arvioidaan *worst case scenario* -tilanteen kautta, jossa elintarvikkeiden OTC-alkupitoisuudeksi on valittu MRL-taso. Laskelmat on siis tehty vain lääkityistä eläimistä saatavista elintarvikkeista ja mallinnetut altistumiset kuvaavat teoreettisia maksimipäiväsaanteja (TMDI). Kulutustottumusten lisäksi huomioon otetaan lämpökäsittelyn vaikutus (taulukko 6) lopulliseen jäämäpitoisuuteen elintarvikkeessa. Kuumennuskäsittelyiden vaikutukset perustuvat kirjallisuuteen. Prosessoinnissa ja kypsentämisessä käytettyjen lämpökäsittelyiden vaikutusta altistumisen suuruuteen ei huomioitu makkaran, kinkun ja pekonin välityksellä tapahtuvassa altistuksen arviossa tiedonpuutteen vuoksi. Altistumisen tasoa arvioidaan suomalaisille keski- ja suurkuluttajille eri ikäryhmittäin, ja se ilmoitetaan kuluttajan painokiloa kohti. Lisäksi altistumista verrataan ADI-arvoon.

Alhaisimman OTC-vähenemän aiheuttaneilla kuumennusmenetelmillä käsiteltyjen elintarvikkeiden välityksellä tapahtuva TMDI havainnollistetaan seuraavaksi kuvaajilla. Naudanlihasta ja -maksasta, sianlihasta ja siitä valmistetusta makkarasta, kinkusta ja pekonista esitetään kustakin yksi kuvaaja. Maitovälitteisessä altistumisessa esitetään sekä pastöroitu (+85 °C, 3 s) maito että raakamaito. Kaikilla tutkituilla kuumennusmenetelmillä käsiteltyjen ruoka-aineiden aiheuttamat oksitetrasykliinin teoreettiset maksimipäiväsaannit ja niiden prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat koottuina liitteen 2 taulukoihin 1–8.

Sianlihavälitteinen OTC-altistus

Sianlihan valmistusmenetelmistä tarkasteltiin uoppopaistamista auringonkukkaöljyssä kahdella eri käsittelyajalla, joissa lihan sisäiset maksimilämpötilat poikkeavat toisistaan hieman. Vähemmän oksitetrasykliiniä

hajosi lyhemmän ajan (3 min) käsittelyssä, jossa sianlihapullan sisäinen lämpötila saavutti maksimissaan 93,4 °C. Oksitetrasykliinin vähenemä oli noin 39,6 % raa'an sianlihan OTC-pitoisuudesta (Nguyen *et al.*, 2013). Kun huomioon otettiin vielä keskiverto- ja suurkuluttajien sianlihan päivittäiskulutus, saadaan arvioitua kolmen minuutin sianlihan uppopaiston aiheuttama TMDI. Altistuminen havainnollistetaan kuvassa 27 sen prosentuaalisen ADI-osuuden kanssa.

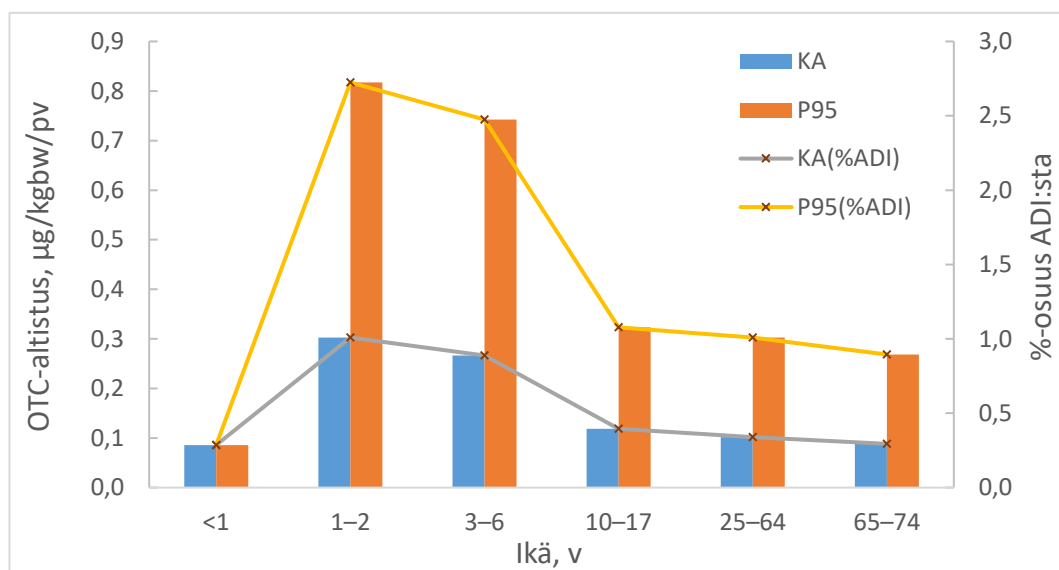


Kuva 27. Uppopaistetun (3 min, lihan sisäinen lämpötila max. +93,4 °C) sianlihan välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvan 27 tulokset viittaavat siihen, että suhteellisesti suurimman OTC-altistumisen kolme minuuttia uppopaistetusta sianlihasta saivat 3–6-vuotiaat. Heidän laskennallinen oksitetrasykliinin TMDI on keskivertokulutuksessa 0,13 µg/kg_{bw} ja suurkulutuksessa puolestaan 0,33 µg/kg_{bw}. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat puolestaan 0,44 % ja 1,3 % samassa järjestyksessä. Alle yksivuotiaiden, 10–17-, 25–64- sekä 65–74-vuotiaiden teoreettiset maksimisaannit eivät eroa suuresti toisistaan. Heidän OTC-altistumisen prosentuaaliset osuudet ADI:sta vaihtelevat keskivertokulutuksessa välillä 0,17–0,21 % ja suurkulutuksessa puolestaan 0,47–0,56 %.

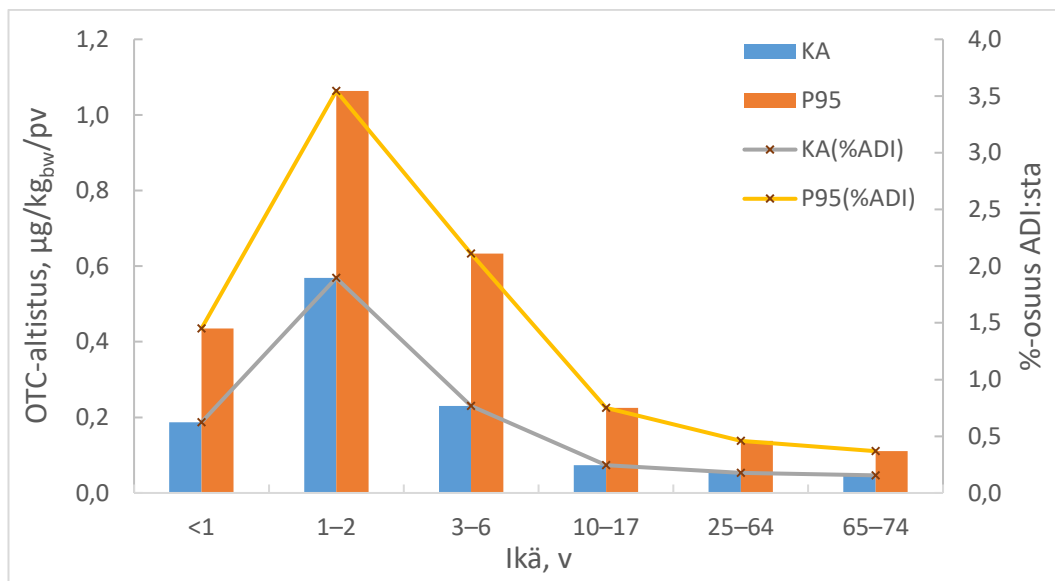
Kuvassa 28 havainnollistetaan makkaran välityksellä tapahtuva TMDI ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta. Altistuksen arvioinnissa ei ole otettu huomioon

makkaran prosessoinnissa ja kypsennyksessä käytettäviä lämpökäsittelyitä. Suurimman OTC-altistuksen saavat 1–2-vuotiaat, joiden oksitetrasykliinin TMDI on keskivertokulutuksessa 0,30 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$ ja suurkulutuksessa puolestaan 0,82 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat 1,0 % ja 2,7 % samassa järjestyksessä. Koska alle yksi vuotiaiden kulutusaineisto pohjautuu vain yhdestä kuluttajasta saatuun tietoon, se ei edusta hyvin tätä ryhmää. Nuorten, aikuisten ja vanhusten OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta vaihtelee keskivertokulutuksessa välillä 0,29–0,39 % ja suurkulutuksessa välillä 0,90–1,1 %.



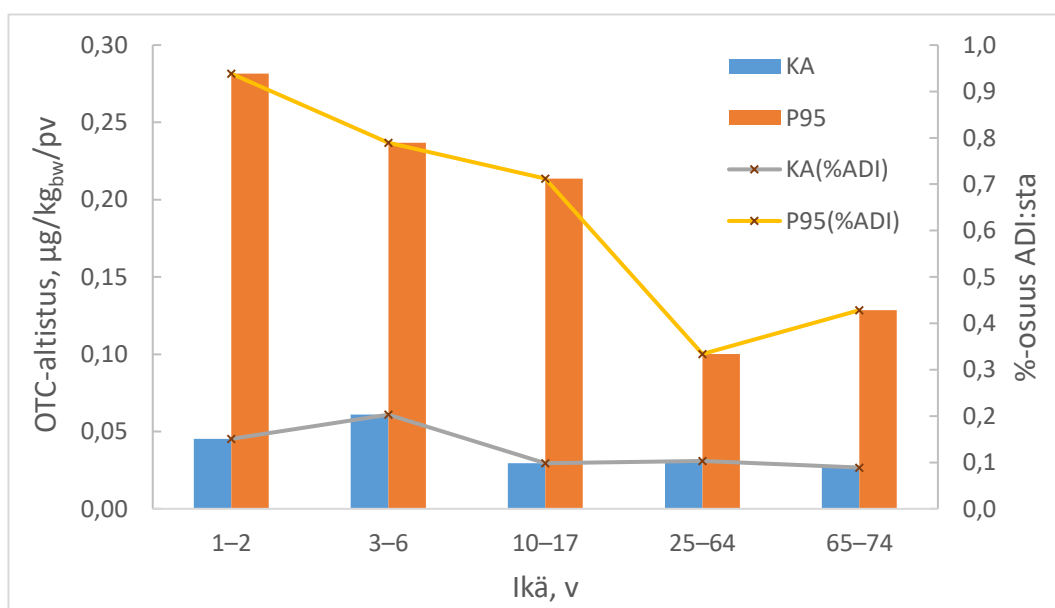
Kuva 28. Makkaran (lämpökäsittelyä ei ole huomioitu) välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvassa 29 esitetään kinkun välityksellä tapahtuva TMDI ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta. Laskelmissa ei ole otettu huomioon kinkun prosessoinnissa ja kypsennyksessä käytettäviä lämpökäsittelyitä. Suurimman OTC-altistuksen saavat 1–2-vuotiaat, joiden oksitetrasykliinin TMDI on keskivertokulutuksessa 0,57 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$ ja suurkulutuksessa 1,1 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat puolestaan 1,9 % ja 3,5 % samassa järjestyksessä. Vähiten altistuvat aikuiset ja vanhukset, joiden OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta vaihtelee keskivertokulutuksessa välillä 0,16–0,18 % ja suurkulutuksessa välillä 0,37–0,46 %.



Kuva 29. Kinkun (lämpökäsittelyä ei ole huomioitu) välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

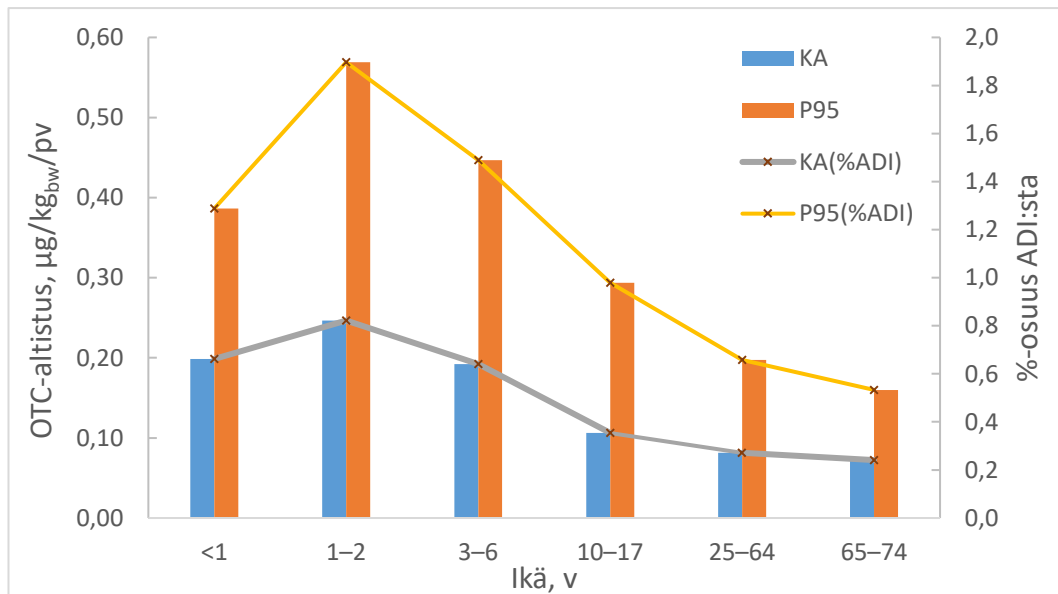
Kuvassa 30 esitetään pekonin välityksellä tapahtuva oksitetrasykliinin TMDI. Altistuksen arvioinnissa ei ole otettu huomioon pekonin prosessoinnissa ja kypsennyksessä käytettäviä lämpökäsittelyitä. OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta vaihtelee keskivertokulutuksessa välillä 0,09–0,2 % ja suurkulutuksessa puolestaan 0,33–0,94 %.



Kuva 30. Pekonin (lämpökäsittelyä ei ole huomioitu) välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Naudanlihavälitteinen OTC-altistus

Naudanlihan valmistusmenetelmistä tarkasteltiin kypsentämistä kaasugrillillä, uunilla sekä pannulla. Valmistusajat sekä lämpötilat vaihtelivat menetelmittäin. Vähiten oksitetrasykliiniä hajosi kaasugrillillä grillatessa 8 minuutin ajan, jolloin pihvi käännettiin vain kerran ja lihan sisäinen lämpötila saavutti maksimissaan +59 °C. Tällöin oksitetrasykliinin vähenemä oli noin 18,5 % raa'an naudanlihan OTC-pitoisuudesta (Rose *et al.*, 1996). Kun huomioon otettiin vielä keskiverto- ja suurkuluttajien naudanlihan päivittäiskulutus, saatiin arvio kaasugrillillä grillatun naudanlihan aiheuttamasta TMDI:sta. Kuvassa 31 esitetään kyseisen päiväsaannin lisäksi sen prosentuaalinen osuus oksitetrasykliinin ADI:sta.

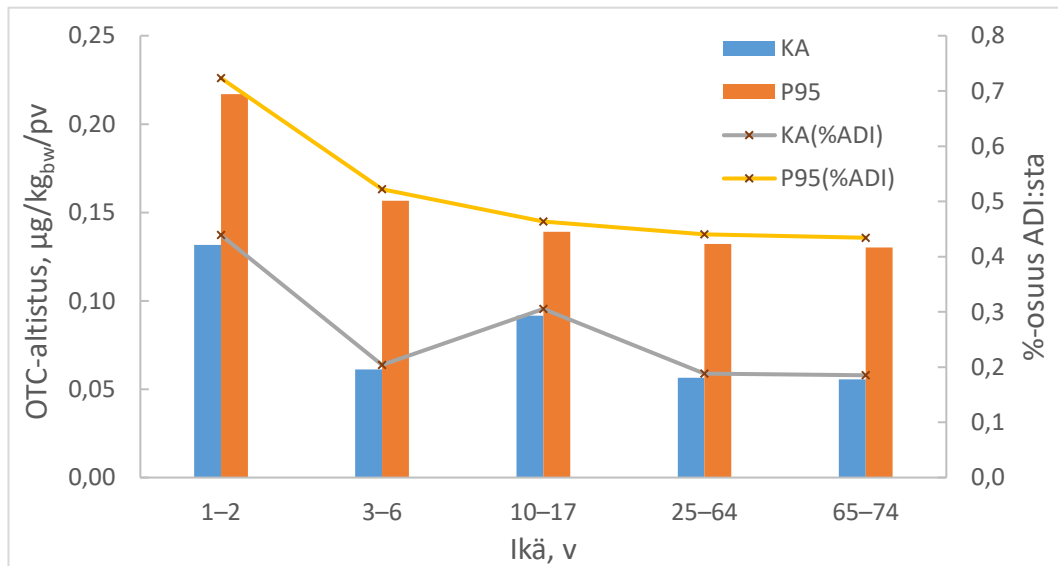


Kuva 31. Kaasugrillillä grillatun (8 min, lihan sisäinen lämpötila max. +59 °C) naudanlihan välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvasta 31 nähdään, että tulokset viittaavat siihen, että suurimman OTC-altistumisen grillatusta naudanlihasta saisivat 1–2-vuotiaat. Heidän laskennallinen oksitetrasykliinin TMDI on keskivertokulutuksessa 0,25 µg/kg_{bw} ja suurkulutuksessa puolestaan 0,70 µg/kg_{bw}. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat puolestaan 0,82 % ja 1,9 % samassa järjestyksessä. Vähiten altistuisivat vanhuks, joiden altistumisen prosentuaalinen osuus on grillatun naudanlihan keskivertokulutuksessa 0,24 % ja suurkulutuksessa 0,53 %.

Naudanmaksavälitteinen OTC-altistus

Tiedonpuutteen vuoksi naudanmaksan valmistusmenetelmistä tarkasteltiin vain pannulla paistamista, jossa maksaa käännellään ajoittain. Oksitetrasykliinin vähenemä oli noin 64,7 % raa'an naudanmaksan OTC-pitoisuudesta, kun sitä paistettiin 24 minuutin ajan. Tällöin maksan sisäinen lämpötila saavutti maksimissaan 62 °C (Rose et al., 1996). Kun huomioon otettiin vielä keskiverto- ja suurkuluttajien naudanmaksan päivittäiskulutus, saadaan arvioitua pannulla paistetun naudanmaksan aiheuttama TMDI. Kyseisen päiväsaannin lisäksi kuvassa 32 havainnollistetaan altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta. Alle yksivuotiaiden maksan välityksellä tapahtuvaa OTC-altistumista ei voitu arvioida, sillä tutkituista suomalaisista yksivuotiaista kukaan ei syönyt naudanmaksaa.



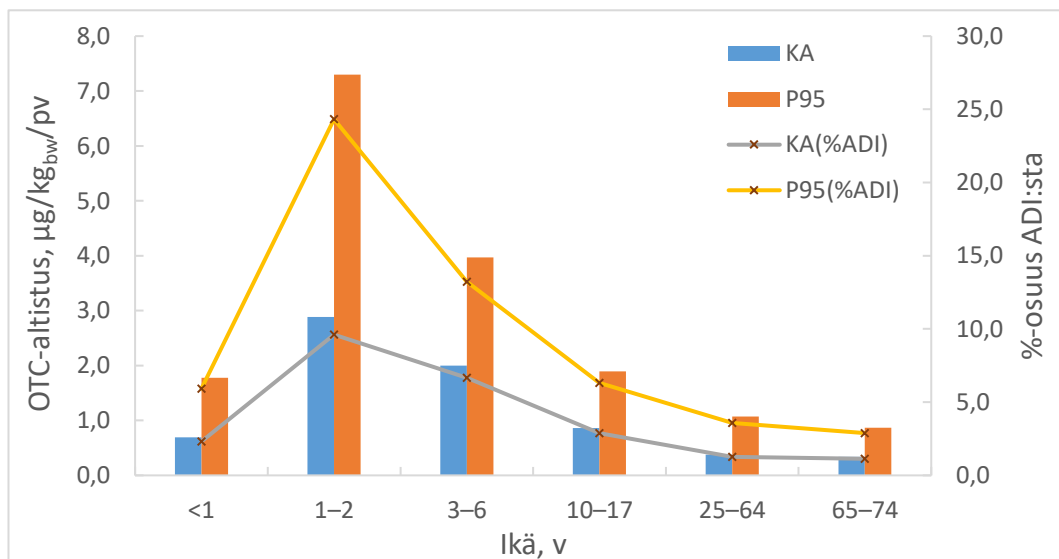
Kuva 32. Pannulla paistetun (24 min, maksan sisäinen lämpötila max. +62 °C) naudanmaksan välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvan 32 tulokset viittaavat siihen, että suurimman OTC-altistumisen paistetusta naudanmaksasta saisivat 1–2-vuotiaat. Heidän laskennallinen oksitetrasykliinin TMDI on keskivertokulutuksessa 0,13 µg/kg_{bw} ja suurkulutuksessa puolestaan 0,22 µg/kg_{bw}. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat puolestaan 0,44 % ja 0,72 % samassa järjestyksessä. Loput tutkituista ikäryhmistä altistuvat lähes yhtä paljon oksitetrasykliinille. Heidän altistuksen prosentuaalinen

osuus ADI:sta vaihtelee keskivertokulutuksessa välillä 0,19–0,31 % ja suurkulutuksessa välillä 0,43–0,52 %.

Lehmänmaitovälitteinen OTC-altistus

Maitoa tarkasteltiin 30 minuutin lämpökäsittelyiden (+62–85 °C) ja pastöroinnin kautta. Vähiten oksitetrazykliiniä hajoaa pastöroinnissa, jossa maito kuumennetaan lämpötilaan +85 °C kolmen sekunnin ajaksi. Oksitetrazykliinin vähenemä oli noin 15,3 % raakamaidon OTC-pitoisuudesta (Kellnerová *et al.*, 2014). Kun huomioon otettiin vielä keskiverto- ja suurkuluttajien maidon päivittäiskulutus, saadaan arvioitua pastöroidun maidon aiheuttama teoreettinen maksimipäiväsaanti. Altistus ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta esitetään kuvassa 33.

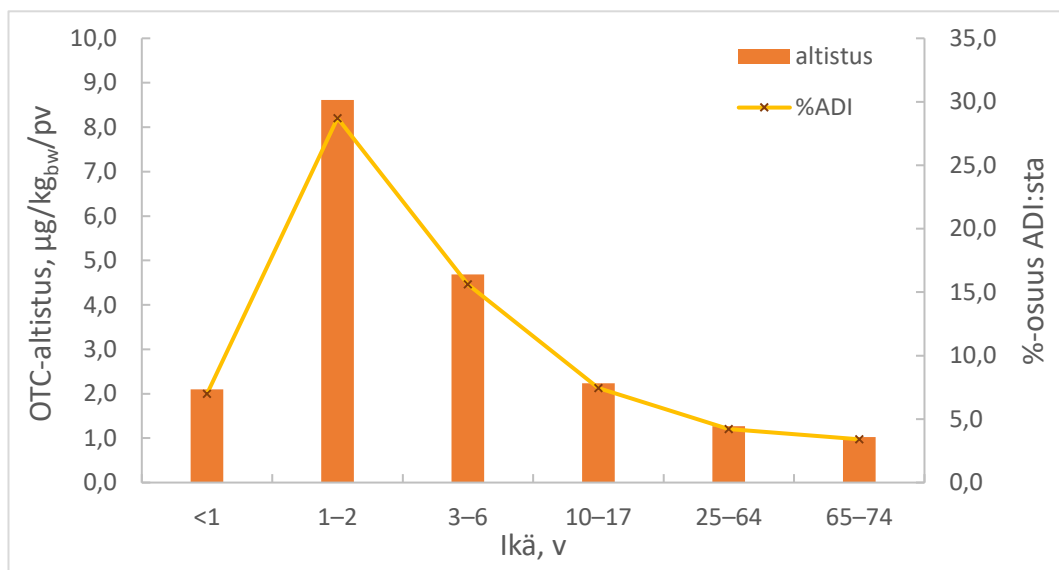


Kuva 33. Pastöroidun (+85 °C, 3 s) maidon välityksellä tapahtuva (KA) keskiverto- ja (P95) suurkuluttajan OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvasta 33 nähdään, että suurimman OTC-altistumisen +85 °C:ssa kolmen sekunnin ajan pastöroidusta maidosta saavat 1–2-vuotiaat. Heidän TMDI on keskivertokulutuksessa 2,9 µg/kg_{bw} ja suurkulutuksessa jopa 7,3 µg/kg_{bw}. Näitä arvoja vastaavat prosentuaaliset osuudet ADI:sta ovat puolestaan 9,6 % ja 24,3 % samassa järjestyksessä. Vähiten altistuvat aikuiset ja vanhukset, joiden OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta vaihtelee keskivertokulutuksessa välillä

1,1–1,3 % ja suurkulutuksessa välillä 2,9–3,6 %. Mallinnuksessa käytetty pastörintiolosuhteet poikkeavat Suomessa käytetystä pastöroinnista (+72 °C, 15 s).

Koska raakamaidosta ei ole saatavilla käyttötietoja ikäryhmittäin, käyttäjien on oletettu kuluttavan sitä saman verran kuin maidon suurkulutuksessa. Tämä oletus luultavasti vääristää arviota raakamaitovälitteisestä OTC-altistumisesta etenkin lasten kohdalla. Raakamaitoa ei lämpökäsitellä, joten altistuminen tulee suoraan maksimijäämäpitoisuudesta. Lisäksi oletetaan, että raakamaidon sisältämät mikrobit eivät hajota oksitetrazykliiniä säilytyksen aikana. Käyttötiedot huomioiden saadaan arvioitua kuluttajien TMDI raakamaidon välityksellä. Kuvassa 34 havainnollistetaan kyseinen altistuminen ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.



Kuva 34. Raakamaidon välityksellä tapahtuva OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ja sen prosentuaalinen osuus ADI:sta.

Kuvasta 34 nähdään, että suurimman OTC-altistuksen raakamaitovälitteisesti saavat 1–2-vuotiaat. Heidän TMDI on 8,6 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$, joka vastaa 28,7 % ADI:sta. Vähiten altistuvat jälleen kerran aikuiset ja vanhukset, joiden OTC-altistuminen on 3,4–4,2 % ADI:sta.

Maidon vierasainevalvonnan kemiallisen analyysin määrittämisrajat vaihtelivat välillä 5–50 µg/kg, mikä on 1:20- ja 1:2-osa maidon MRL-arvosta. Koska maidon kulutusaineisto pysyy samana, vain maidon OTC-alkupitoisuus vaihtelee, niin erillisiä kuvaajia altistumisesta ei esitetä. OTC-altistuksen voi laskea helposti teoreettisesta maksimipäiväsaannista. Määrittämisrajan alle jääneistä maitonäytteistäkin tulee mitättömän pieni altistuminen. Tarkemmat tulokset altistuksen prosentuaalisesta osuudesta ADI:sta esitetään liitteen 3 taulukoissa 1 ja 2.

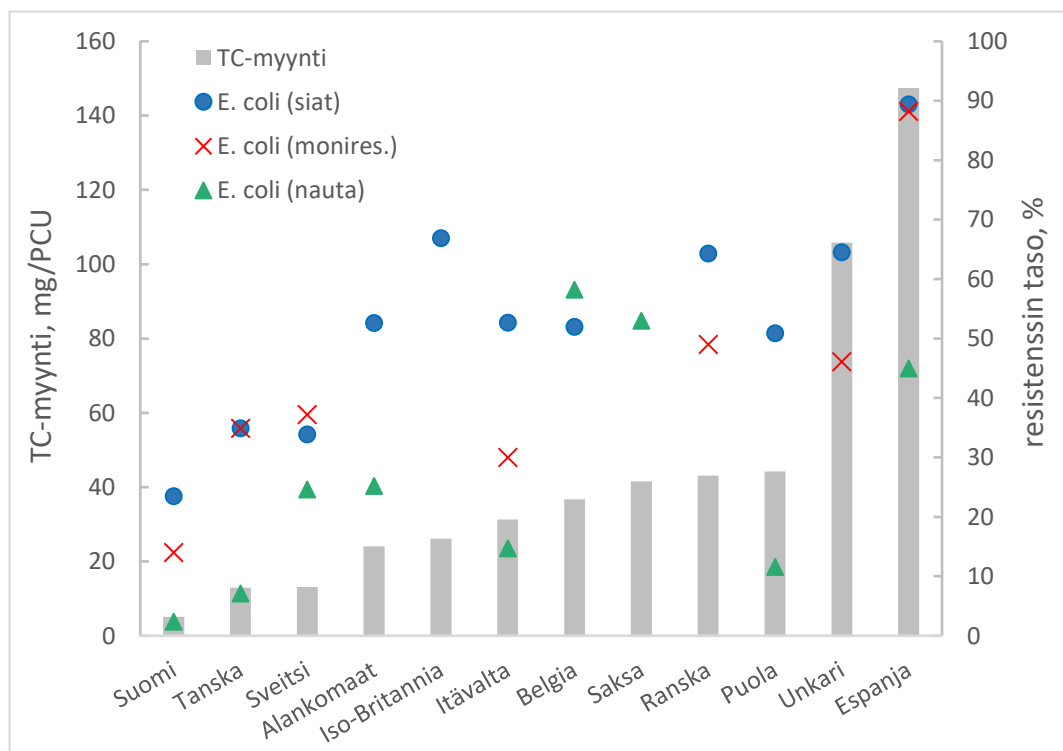
OTC-altistuksessa arvioidut *worst case scenario* -tilanteet ovat melko epärealistisia, etenkin Suomessa, jossa mikrobilääkkeiden käyttö on erittäin maltillista varoaikojä noudattaen. Lisäksi on jäämäseurantaa, joilla pyritään varmistamaan elintarvikkeiden turvallisuus. Toisaalta kuluttajille tuo helpotusta, ettei MRL-tasoisilla jäämillä loppujen lopuksi tule kovinkaan suurta altistusta.

10.3 Tetrasykliinimyyntin ja -resistenssitilanteen välinen yhteys

Tuotantoeläimille (huom. ei eläinlajikohtaista erottelua) tarkoitettujen tetrasykliiniä sisältävien mikrobilääkkeiden myyntiä (kuva 6 Kuva 6) sekä naudasta ja siasta eristettyjen *E. coli* -indikaattoribakteerien tetrasykliiniresistenssintasoja (kuvat 12 ja 13) tarkastellessa voidaan havaita, että tetrasykliinien käytöllä ja resistenssillä voi olla yhteys. Etenkin Espanjassa, missä tetrasykliinien myynti (147,4 mg/PCU vuonna 2014) oli toiseksi korkein raportoiduista maista, tämä yhteys on erittäin selkeä. Naudasta vuonna 2012 eristetyn *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssintaso oli 45,0 % ja siasta vuonna 2013 eristetyn jopa 89,4 %. Lisäksi 88,2 % siasta eristetyistä *E. coli* -indikaattoreista oli vuonna 2013 moniresistenttejä. Espanjan tilanne on erittäin huolestuttava. Kyproksella myytiin vuonna 2014 eniten tetrasykliinejä, mutta maan resistenssin tasosta ei ole saatavilla aineistoa. Suomessa tetrasykliinien myynti on noin 3,4 % Espanjan vuosimyyntistä ja *E. coli* -indikaattoribakteerien tetrasykliiniresistenssin

taso on 44 prosenttiyksikköä (naudasta) ja 65,9 prosenttiyksikköä (siasta) alhaisempi kuin Espanjassa.

Vaikka tilastot ovat eri vuosilta, tietoja voidaan verrata toisiinsa, sillä kokonaismyynti ja resistenssin taso eivät todennäköisesti muutu nopeasti. Aineistoista on laadittu kuva 35, jossa on havainnollistettu tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliiniä sisältävien mikrobilääkkeiden kokonaismyynti ja *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssintaso. Kuvaa tarkasteltaessa voidaan havaita, että tetrasykliinimyyntin ja -resistenssin esiintyvyyden välillä on korrelaatio, etenkin sioista eristetyssä *E. coli* -indikaattorissa. Naudoista eristetyssä *E. coli* -indikaattorissa korrelaatio ei ole niin selkeä. Tämän selittääkin osittain se, että mikrobilääkkeiden myyntitietoja ei valitettavasti ole toistaiseksi saatavilla eläinlajikohtaisesti. Lisäksi moniresistenssin esiintymiseen vaikuttaa tetrasykliinilääkkeiden lisäksi muiden mikrobilääkkeiden käyttö.



Kuva 35. Tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliiniä sisältävien mikrobilääkkeiden kokonaismyynti vuonna 2014 ja vuonna 2011 sioista sekä vuonna 2012 naudoista eristetyssä *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso. monires. = lihasiasta eristetyssä *E. coli* -indikaattorin moniresistenssin taso (lähteet: EMA, 2016; EFSA & ECDE, 2015; EFSA & ECDC, 2015).

Mielenkiintoista onkin, korreloiko tetrasykliinien käyttö jäämápitoisuuteen tuotantoeläimistä saaduissa elintarvikkeissa, kuten lihassa tai maidossa. Lisäksi herää kysymys tuontilihan ja -maidon vaikutuksesta suomalaisten kuluttajien OTC-altistumiseen. Suomeen tuotava sian- ja naudanliha sekä maito voidaan jäljittää. Vuoden 2015 tilaston mukaan Suomeen tuotiin eniten naudanlihaa Tanskasta ja sianlihaa Saksasta (Anon.,2017e). Vuonna 2015 Suomeen tuotiin kaiken kaikkiaan 13,5 miljoonaa kiloa naudanlihaa (tuoretta, jäähdytettyä tai jäädytettyä, sekä luullista että luutonta), mikä vastasi määrällisesti noin 16,2 % Suomessa tuotetun naudanlihan kulutuksesta. Tuontinaudanlihasta 32,9 % oli peräisin Tanskasta, mikä vastasi noin 5,3 % Suomessa tuotetun naudanlihan kulutuksesta. Vuonna 2014 Tanskan tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliinilääkkeiden myynti (mg/PCU) oli hieman yli kaksinkertainen Suomen myyntiin verrattuna (EMA, 2016). Vuonna 2012 siellä naudasta eristetyin *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso oli melko alhainen, noin kolminkertainen Suomen tasoon verrattuna (Tanskassa 7,1 %, Suomessa 2,4 %) (EFSA & ECDC, 2014).

Vuonna 2015 Suomeen tuotiin yhteensä 21,6 miljoonaa kiloa sianlihaa (tuoretta, jäähdytettyä tai jäädytettyä), mikä vastasi määrällisesti noin 13,3 % Suomessa tuotetun sianlihan kulutuksesta. Tuontisianlihasta 67,2 % oli peräisin Saksasta, mikä vastasi noin 8,9 % Suomessa tuotetun sianlihan kulutuksesta (Anon.,2017e). Vuonna 2014 Saksan tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliinilääkkeiden myynti oli hieman yli kahdeksankertainen Suomen myyntiin verrattuna. Vuonna 2011 siellä siasta eristetyin *E. coli* -indikaattorin tetrasykliiniresistenssin taso oli 62,5 %, kun Suomessa vastaava arvo oli 23,5 % (EFSA & ECDC, 2014; EFSA & ECDC, 2015).

Suomessa kulutettu maito on erittäin suurelta osin kotimaassa tuotettua. Vuonna 2015 Suomeen tuotiin noin 21,8 miljoonaa kiloa maitoa (sisältäen kerman), mikä vastasi vain noin 0,91 % Suomessa tuotetun maidon kulutuksesta. Tuontimäärällisesti suurimmat alkuperämaat olivat Ruotsi ja Saksa.

Tuontimaidosta 55,3 % oli peräisin Ruotsista, mikä vastasi määrällisesti 0,50 % Suomessa tuotetun maidon kulutuksesta (Anon.,2017e). Suomen tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliinilääkkeiden myynti oli hieman yli viisinkertainen Ruotsin myyntiin verrattuna (EMA, 2016). Ruotsin tetrasykliiniresistenssin tasosta ei ole saatavilla aineistoa.

Pelkkien tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliinejä sisältävien mikrobilääkkeiden myynnin sekä indikaattoribakteerin resistenssin tason pohjalta on vaikea arvioida todellista tilannetta tetrasykliinijäämistä elintarvikkeista. Jos oletetaan, että tetrasykliinilääkkeiden myynti korreloi jäämäpitoisuuteen elintarvikkeissa, niin tuontilihaa voitaisiin pitää mahdollisena riskinä suomalaisille kuluttajille. Toisaalta, vuonna 2015 Suomeen tuotu sian- ja naudanliha sekä maito vastasivat vain 16,2 %, 13,3 % ja 0,91 % vastaavien Suomessa tuotettujen tuotteiden kulutuksesta eli vain hyvin pieni osa kuluttajien syömistä tuotteista on peräisin ulkomailta. Riskiryhmänä ovat kuitenkin kuluttajat, jotka kuluttavat pääsääntöisesti ulkomailla tuotettuja elintarvikkeita.

11 Johtopäätökset

Tämän diplomityön tavoitteena oli tehdä kvalitatiivinen riskinarviointi oksitetrasykliiniä sisältävien mikrobilääkkeiden käytön vaikutuksista jäämäpitoisuuksiin naudasta ja siasta saatavissa elintarvikkeissa. Oksitetrasykliinin käyttäytymistä tuotantoeläimissä arvioitiin farmakokineettisillä malleilla ja laskettiin eri-ikäisten kuluttajien ruokatottumusten pohjalta heidän oksitetrasykliinin TMDI. Lisäksi tarkasteltiin tuotantoeläimille tarkoitettujen tetrasykliinejä sisältävien mikrobilääkkeiden myyntiä ja tutkimuksen kohteina olevista tuotantoeläimistä eristetyin *E. coli* -indikaattoribakteerin tetrasykliiniresistenssin tasoa Euroopan maissa. Riskinarvioinnin kannalta tässä työssä tunnistettiin ja kuvattiin vaara ilman kvantitatiivista annosvastetta ja arvioitiin altistuksen suuruus.

Kertainjektiona annetun oksitetrasykliiniä sisältävän mikrobilääkkeen käyttäytymistä sian ja naudan plasmassa havainnollistettiin kirjallisuuteen perustuvien farmakokineettisten parametrein ja mallein. Arvioitu plasman OTC-pitoisuus ekstrapoloitiin naudan- ja sianlihaan sekä naudanmaksaan. Kunkin mallin mukaan tutkittujen kudosten OTC-pitoisuus laski alle jäämien enimmäismäärän (MRL lihalle 100 µg/kg ja maksalle 300 µg/kg) paljon ennen varoajan päättymistä. Mikäli tuotantoeläinten lääkehoidoissa noudatetaan mikrobilääkevalmisteiden annostusohjeita ja varoaikoja, ei tuotantoeläimistä saatuihin elintarvikkeisiin pitäisi jäädä jäämiä lääkkeitä. Farmakokineettisessä mallinnuksessa saatuja tuloksia ei hyödynnetty OTC-altistuksen arvioinnissa, sillä pitoisuudet olivat erittäin alhaisia, jolloin kuluttajin kohdistuva terveysriski on mitättömän pieni.

Tämän työn kirjallisuuteen pohjautuvien matemaattisten mallien ja parametrien käyttö oksitetrasykliinin mallintamiseen sairaassa eläimessä ei ole kovinkaan luotettava. Rajoituksena on nimittäin se, että tutkimuksissa on käytetty terveitä eläimiä ja niille on annettu ainoastaan kertainjektio. Sairaissa eläimissä lääkeaineet käyttäytyvät eri tavoin ja yleisesti sairaustapauksissa hoitojakson aikana annetaan useampi lääkeannos. Lisäksi lääkkeet käyttäytyvät aina eläinyksilöstä riippuen muun muassa rasvakoostumuksesta, iästä ja ravitsemustilasta. Jotta farmakokineettiset mallit kuvaisivat tarkemmin lääkittyjä tuotantoeläimiä, tarvittaisiin enemmän tutkimuksia mikrobilääkkeen käyttäytymisestä sairaissa eläimissä todellisuutta vastaavilla lääkeannoksilla ja hoitojaksoilla.

Kuluttajien mahdollista OTC-altistumista arvioitiin teoreettisen maksimisaannin (TMDI:n) avulla. Kyseessä on siis altistumisen *worst case scenario* -tilanne, jossa kuluttaja syö vain lääkityistä eläimestä saatavaa elintarviketta, jossa OTC-alkupitoisuus ennen lämpökäsittelyä on MRL-tason verran. Altistuksen arviot tehtiin kunkin ikäryhmän keskivertokuluttajalle ja suurkuluttajalle mahdollinen

elintarvikkeen lämpökäsittely huomioon ottaen (pois lukien sianlihasta valmistettu makkara, kinkku ja pekoni). Lämpökäsittely toimii OTC-pitoisuutta alentavana tekijänä eikä muita pitoisuutta vähentäviä tai lisääviä tekijöitä ole otettu huomioon. Toisaalta lämpökäsittelyssä tapahtuneen oksitetrasykliinin hajoamisesta muodostuneiden metaboliittien terveysvaikutuksia ei tiedetä. Saatua altistusarviota verrattiin hyväksyttyn päiväsaantiin (ADI:iin). TMDI arvioitiin kullekin elintarvikkeelle erikseen. Todellisuudessa kuluttaja altistuu mahdollisille OTC-jäämille eri elintarvikkeiden välityksellä. Kokonaisaltistus saadaan laskemalla niiden aiheuttamat altistukset yhteen. Lisäksi tarkempi arvio altistuksesta saataisiin käyttämällä MRL-tason sijasta elintarvikkeiden sisältämästä OTC:sta pitoisuusjakaumaa, jos aineistoa olisi saatavilla. Tässä työssä ei huomioitu muiden altistuslähteiden, kuten ilman, maaperän ja veden, vaikutusta.

Tutkituista elintarvikkeista suurin TMDI tuli raakamaidon välityksellä, mikä osaltansa johtuu siitä, että raakamaitoa ei lämpökäsitellä. Suhteellisesti suurimman raakamaitovälitteisen altistuksen saavat 1–2-vuotiaat (28,7 % ADI:sta) ja 3–6-vuotiaat (15,6 % ADI:sta). Suomessa naudan- ja sianlihan, naudanmaksan sekä sianlihasta prosessoitujen makkaroiden, kinkun ja pekonin välityksellä tapahtuva OTC-altistuminen arvioitiin lähes mitättömän pieneksi.

Muihin Euroopan maihin verrattuna Suomen resistenssitilanne oli suhteellisen hyvä. Suurinta huolta aiheuttaa Espanja, jossa moniresistenssin esiintyvyys vuonna 2013 siasta eristetyssä *E. coli* -indikaattoribakteerissa oli jopa 88,2 %. Suomessa vastaava esiintyvyys oli 14,0 %. Tuontilihan vaikutus suomalaisen kuluttajan OTC-altistukseen ei ole kovinkaan suuri, sillä kaiken kaikkiaan Suomeen tuodaan ulkomailta hyvin vähän lihaa. Ulkomaisen naudanlihan kulutus on noin 16,2 % suomalaisen naudanlihan kulutuksesta. Ulkomaisen sianlihan kulutus vastaa puolestaan noin 13,3 % suomalaisen sianlihan kulutusta. Tästä syystä ulkomailta tuodun naudan- ja sianlihan ei arvioitu tuottavan suomalaisille kuluttajille suurta lääkejäämistä aiheutuvaa riskiä.

Lähteet

- Anonyymi, Evira Elintarviketurvallisuusvirasto – Riskianalyysi
<https://www.evira.fi/tietoa-evirasta/esittely/toiminta/riskinarviointi/riskianalyysi/>, 14.6.2016a.
- Anonyymi, EFSA – The EFSA comprehensive European food consumption database,
<http://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>, 22.9.2016b
- Anonyymi, Maito ja terveys, <http://www.maitojaterveys.fi/maitotietoa/tietoa-maitovalmisteista/maidon-kasittely/maitovalmisteiden-lampokasittelyt.html>, 24.10.2016c.
- Anonyymi, Maitohygienialiitto – Mikrobilääkejäämät maidossa,
<http://www.maitohygienialiitto.fi/tilastot/mikrobilaeaekejaemaet-maidossa>, 12.12.2016d.
- Anonyymi, Evira Elintarviketurvallisuusvirasto – Antibioottiresistenssin seuranta,
<https://www.evira.fi/elaimet/elainten-terveys-ja-elaintaudit/laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/>, 21.12.2016e.
- Anonyymi, Eurostat – Production of meat: pigs,
<http://ec.europa.eu/eurostat/tgm/table.do?tab=table&init=1&plugin=1&language=en&pcode=tag00042>, 2.11.2016f.
- Anonyymi, Eurostat – Production of meat: cattle,
<http://ec.europa.eu/eurostat/tgm/table.do?tab=table&init=1&plugin=1&language=en&pcode=tag00044>, 2.11.2016g.
- Anonyymi, Luke – Alueittainen maidontuotanto 2015,
<http://stat.luke.fi/alueittainen-maidontuotanto>, 5.1.2017a.
- Anonyymi, EFSA – Number of survey per country, survey details, Finland,
<https://dwh.efsa.europa.eu/bi/asp/Main.aspx?rwtrep=001>, 5.1.2017b.
- Anonyymi, Luke – Tilastotietokanta, Elintarvikkeiden kulutus henkeä kohti (kg/vuosi), <http://stat.luke.fi/tilasto/14/tilastojulkaisulistaus>, 10.1.2017c.
- Anonyymi, Technical Bulletin – Sensitivity of the Delvotest® SP NT,
<http://nelsonjameson.com/content/wp-content/uploads/2015/08/Detection-Sensitivity-list-of-the-Delvotest-SP-NT.pdf>, 12.1.2017d.
- Anonyymi, Uljas – Ulkomaankauppatietojen jakelujärjestelmä, Taulukko: SITC rev4, <http://uljas.tulli.fi/>, 20.1.2017e.

- Anonyymi, Evira Elintarviketurvallisuusvirasto – Riskinarvioinnin terminologiaa, <https://www.evira.fi/tietoa-evirasta/esittely/toiminta/riskinarviointi/riskinarvioinnin-terminologiaa/>, 31.1.2017f.
- Anonyymi, Lihätiedotus – Lihan kulutus Suomessa, <http://www.lihatiedotus.fi/liha-tilastoissa/lihan-kulutus-suomessa.html>, 1.2.2017g.
- Anonyymi, Luke – Maatalous- ja puutarhayritysten rakenne: Maatalous- ja puutarhayritysten lukumäärä tuotantosunnittain, <http://stat.luke.fi/maatalous-ja-puutarhayritysten-rakenne>, 19.2017h.
- Baggot, J. D., Chapter 5 – Disposition and fate of drugs in the body, Teoksessa *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 4. painos, toim. J. Meyer Jones, N. H., Booth ja L. E. McDonald, The Iowa State University Press, Iowa 1977, ss. 43–78.
- Barlett, J. G., Antibiotic-associated diarrhea, *Clin. Infect. Dis.* **15** (1992) 573–581.
- Beyene, T., Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health, *J. Vet. Sci. Technol.* **7(1)** (2016) 1–7.
- Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (CDDEP), *State of the World's Antibiotics*, CDDEP, Washington 2015, 80 s.
- Chopra, I., Hawkey, P. M. ja Hinton, M., Review: Tetracyclines, molecular and clinical aspects, *J. Antimicrob. Chemother.* **29** (1992) 245–277.
- Chopra, I. ja Roberts, M., Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **65** (2001) 232–260.
- Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira) ja Helsingin yliopiston eläinlääketieteellinen tiedekunta (HY ELTDK), *Mikrobilääkkeiden käyttösuositukset eläinten tärkeimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin*, Evira, Helsinki 2016, 50 s.
- Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira), *Elintarviketurvallisuus Suomessa 2015*, Evira, Helsinki 2016, 68 s.
- European Food Safety Authority (EFSA) ja European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator from humans, animals and food in 2013, *EFSA J.* **13(2)** (2015) 178 s.
- European Food Safety Authority (EFSA) ja European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012, *EFSA J.* **12(3)** (2014) 336 s.

- European Medicines Agency (EMA), Sales of veterinary antimicrobial agents in 25 EU/EAA countries in 2011, Third ESVAC report, *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*, 2013. (EMA/236501/2013).
- European Medicines Agency (EMA), Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EAA countries in 2012, Fourth ESVAC report, *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*, 2014. (EMA/333921/2014).
- European Medicines Agency (EMA), Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EAA countries in 2013, Fifth ESVAC report, *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*, 2015. (EMA/387934/2015).
- European Medicines Agency (EMA), Sales of veterinary antimicrobial agents in 29 European Countries in 2014, Sixth ESVAC report, *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*, 2016. (EMA/61769/2016).
- FINRES-Vet 2007–2009, Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents, Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2011, 62 s.
- FINRES-Vet 2010–2012, Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents, Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2015, 60 s.
- Gorris, L. G. M., Risk assessment: principles, methods, and applications, Teoksessa *Encyclopedia of food safety*, toim. Motarjemi, Y., Moy, G. G. ja Todd, E. C. D., Elsevier, Inc., Waltham 2014, ss. 65–72.
- Guerra, W., Silva-Caldeira, P. P., Terenzi, H ja Pereira-Maia, E. C., Impact of metal coordination on the antibiotic and non-antibiotic activities of tetracycline-based drugs, *Coord. Chem. Rev.* **327–328** (2016) 188–199.
- Haritova, A. M. ja Fink-Gremmels, J., A simulation model for the prediction of tissue:plasma partition coefficients for drug residues in natural casings, *Vet. J.* **185** (2010) 278–284.
- Hassani, M., Lázaro, R., Pérez, C., Condón, S. ja Pagán, R., Thermostability of oxytetracycline, tetracycline, and doxycycline at ultrahigh temperatures, *J. Agric. Food Chem.* **56** (2008) 2676–2680.
- Huber, W. G., Chapter 48 – Tetracyclines, Teoksessa *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 4. painos, toim. J. Meyer Jones, N. H., Booth ja L. E. McDonald, The Iowa State University Press, Iowa 1977, ss. 929–971.
- Jahed Khaniki, G. R., Chemical contaminants in milk and public health concerns: a review, *Int. J. Dairy Sci.* **2** (2007) 104–115.

- JECFA, World Health Organization – Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>, 9.11.2016.
- Kariaho, E., Gruzdaitis, P., Hannula, K., Hednäs, P., Mononen, A., Ruponen, M. ja Tuderman, P., *Pharma fennica veterinaria*, Lääketietokeskus, Helsinki 2014, s. 420 – 422, 1014 – 1016, 1017–1019.
- Kellnerová, E., Nacrátilová, P. ja Barkovcová, I., Effect of pasteurization on the residues of tetracyclines in milk, *Acta Vet. Brno* **83** (2014) S21–S26.
- Karlström, U., Nuotio, L., Lindfors, E. ja Maijala, R., Simulation of human exposure to benzylpenicillin residues via pork originating from pigs fed with a dairy by-products, *Food Addit. Contam.* **24** (2007) 266–273.
- Kivilahti-Mäntylä, K., FIMEA – Mikrobilääkkeiden kulutus eläimillä, http://www.fimea.fi/elainlaakkeet/mikrobilaakkeiden_kulutus_elaimilla, 3.10.2016.
- Kivistö, K. ja Neuvonen, J. P., 4. Farmakokinetiikka, Teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, 6. painos, toim. M. Koulumäki ja J. Tuomisto, Medicina, Kuopio 2001, ss. 75–94.
- Komission asetus (EU) 37/2010, annettu 22 päivä joulukuuta 2009, farmakologisesti vaikuttavista aineista ja niiden eläinperäisissä elintarvikkeissa esiintyvien jäämien enimmäismääriä koskevasta luokituksesta (*EUVL L 15* 21.1.2010, s. 1).
- Komission päätös 97/747/EY, tehty 27 päivänä lokakuuta 1997, neuvoston direktiivissä 96/23/EY säädettyjen näytteenottotasojen ja -taajuuksien vahvistamisesta tiettyjen aineiden ja niiden jäämien valvomiseksi tietyissä eläintuotteissa (*EYVL L 303* 6.11.1997, s. 12).
- Komission tiedote 2015/C 299/04, Ohjeet mikrobilääkkeiden maltilliseen käyttöön eläinlääkinnässä (*EUVL C 299* 11.9.2015, s. 7).
- Kumar, R. ja Malik, J. K., Influence of endotoxin on the disposition kinetics and dosage regimens of oxytetracycline in calves, *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **26** (2003) 159–164.
- Kumar, R. ja Malik, J. K., Effects of experimentally induced *Theileria annulata* infection on the pharmacokinetics of oxytetracycline in cross-bred calves, *Vet. Res.* **30** (1999) 75–86.
- Komission täytäntöönpanopäätös 2013/652/EU, annettu 12 päivänä marraskuuta 2013, zoonoottisten ja indikaattoribakteerien mikrobilääkeresistenssin seurannasta ja raportoinnista (*EUVL L 303* 14.11.2013, s. 26).

- Landoni, M. F. ja Errecalde, J. O., Tissue concentrations of a long-acting oxytetracycline formulation after intramuscular administration in cattle, *Rev. Sci. Tech.* **11** (1992) 909–915.
- Maa- ja metsätalousministeriön (MMM) asetus 1/EEO/2007, annettu 24. päivä tammikuuta 2007, vieraista aineista eläimistä saatavissa elintarvikkeissa.
- Maa- ja metsätalousministeriön (MMM) asetus 795/2014, annettu 3. päivänä lokakuuta 2014, laitosten elintarvikehygieniasta.
- Michalova, E., Novotna, P. ja Schlegelova, J., Tetracyclines in veterinary medicine and bacterial resistance to them, *Vet. Med. (Prague, Czech Repub.)* **49** (2004) 79–100.
- McEwen, S. A., Chapter 21 – Human Health Importance of use of Antimicrobials in Animals and Its Selection of Antimicrobial Resistance, Teoksessa *Antimicrobial resistance in the Environment*, toim. Keen, P. L. ja Montforts, M. H. M. M., John Wiley & Sons, Inc., New Jersey 2012a, ss. 391–422.
- McEwen, S. A., Quantitative human health risk assessments of antimicrobial use in animals and selection of resistance: a review of publicly available reports, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **31** (2012b) 261–276.
- Mevius, D. J., Nouws, J. F. M., Breukink, H. J., Vree, T. B., Driessens, F., ja Verkaik, R., Comparative pharmacokinetics, bioavailability and renal clearance of five parenteral oxytetracycline-20% formulations in dairy cows, *Vet. Q.* **8** (1986a) 285–294.
- Mevius, D. J., Vellenga, L., Breukink, H. J., Nouws, J. F. M., Vree, T. B. ja Driessens, F., Pharmacokinetics and renal clearance of oxytetracycline in piglets following intravenous and oral administration, *Vet. Q.* **8** (1986b) 274–284.
- Moy, G. G., Risk assessment: chemical hazards, Teoksessa *Encyclopedia of food safety*, toim. Motarjemi, Y., Moy, G. G. ja Todd, E. C. D., Elsevier, Inc., Waltham 2014, ss. 93–97.
- Neuvoston direktiivi 96/23/EY, annettu 29 päivänä huhtikuuta 1996, elävissä eläimissä ja niistä saatavissa tuotteissa olevien tiettyjen aineiden ja niiden jäämien osalta suoritettavista tarkastustoimenpiteistä ja direktiivien 85/358/ETY ja 86/469/ETY sekä päätösten 89/187/ETY ja 91/664/ETY kumoamisesta (EYVL L 125 23.5.1996, s. 10).
- Nguyen, VH., Li, MQ., Khan, M. A., Li, CB. ja Zhou, GH., Effect of cooking methods on tetracycline residues in pig meat, *Afr. J. Phar. Pharmacol.* **7** (2013) 1448–1454.
- Nguyen, VH., Nguyen, VT., Li, CB. ja Zhou GH., The degradation of oxytetracycline during thermal treatments of chicken and pig meat and the toxic effects of

- degradation products of oxytetracycline on rats, *J. Food Sci. Technol.* **52** (2015) 2842-2850.
- Nisha, A. R., Antibiotic residues – a global health hazard, *Vet. World* **1** (2008) 375–377.
- Nouws, J. F. M., Irritation, bioavailability, and residues aspects of ten oxytetracycline formulations administered intramuscularly to pigs, *Vet. Q.* **6** (1984) 80-84.
- Nouws, J. F., Vree, T.B., Termond, E., Lohuis, J., van Lith, P., Binkhorst, G. J. ja Breukink, H. J., Pharmacokinetic and renal clearance of oxytetracycline after intravenous and intramuscular administration to dairy cows, *Vet. Q.* **7** (1985) 296-305.
- Papich, M. G. ja Riviere, J. E., Tetracycline antibiotics, Teoksessa *Veterinary pharmacology & therapeutics*, 9. painos, toim. M. G. Papich ja J. E. Riviere, Wiley-Blackwell, Iowa 2009, ss. 895 – 914.
- Pekkanen, K., *Mikrobilääkejäämien toteaminen maidosta Delvotest SP-NT -testillä*, Menetelmäohje Evira 3482/8, 2015, 5s.
- Perkiömäki, J., Leimi, A. ja Tuominen, P., *Suomessa tuotetun raakamaidon biologiset vaarat -riskiprofiili*, Eviran tutkimuksia 4/2012, 2012, 131 s.
- Pijpers, A., Schoevers, E. J., van Gigh, H., van Leemgoed, L. A. M. G., Visser, I. J. R., van Miert, A. S. J. P. A. M. ja Verheijden, J. H. M., The pharmacokinetics of oxytetracycline following intravenous administration in healthy and diseased pigs, *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **13** (1990) 320–326.
- Presi, P., Stärk, K. D. C., Stephan, R., Breidenbach, E., Frey, J. ja Regula, G., Risk scoring for setting priorities in a monitoring of antimicrobial resistance in meat and meat products, *Int. J. Food Microbiol.* **130** (2009) 94–100.
- Rose, M. D., Bygrave, J., Farrington, W. H. H. ja Shearer, G., The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 4. oxytetracycline, *Food Addit. Contam.* **13** (1996) 275–286.
- Salyers, A. A., Speer, B. S. ja Shoemaker, N. B., New perspectives in tetracycline resistance, *Mol. Microbiol.* **4** (1990), 151–156.
- Sandholm, M., Utaretulehduksen antibioottihoitoon vaikuttavat tekijät, Teoksessa *Utareen sairaudet*, toim. M. Sandholm ja L. Kaartinen, Eläinlääketieteellinen Korkeakoulu, Helsinki 1986, ss. 183–195.
- Shahani, K. M., Factors affecting terramycin activity in milk, broth, buffer, and water, *J. Dairy Sci.* **41** (1958) 382-391.

- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V. ja Singh, R., Antibiotic resistance among commercially available probiotics, *Food Res. Int.* **57** (2014) 176–195.
- Telkänranta, H., Raekallio, M. ja Vainio, O., *Eläinlääkinnän farmakokinetiikka ja farmasia*, Fennovet Oy, Helsinki 2013, 160s.
- Toutain, P. L. ja Raynaud, J. P., Pharmacokinetics of oxytetracycline in young cattle: comparison of conventional vs. long-acting formulations, *Am. J. Vet. Res.* **44** (1983) 1203–1209.
- Tuominen, R. K. & Männistö, P. T., Proteiinisynteesiä estävät mikrobilääkkeet, Teoksessa *Farmakologia ja toksikologia*, 6. painos, toim. M. Koulumäki & J. Tuomisto, Medicina, Kuopio 2001, s. 827–831.
- Van Vleck Pereira, R., Lima, S., Siler, J. D., Foditsch, C., Warnick, L. D. ja Bichalho, R. C., Ingestion of milk containing very low concentration of antimicrobials: longitudinal effect of fecal microbiota composition in preweaned calves, *PLoS one* **11**(1) 2016 1–18.
- Vragović, N., Bažulić, D. ja Njari, B., Risk assessment of streptomycin and tetracycline residues in meat and in milk on Croatian market, *Food Chem. Toxicol.* **49** (2011) 352–355.
- Wang, J., MacNeil, J. D. ja Kay, J. F., *Chemical analysis of antibiotic residues in food*, John Wiley & Sons, New Jersey 2012, 353 s.
- WHO ja FAO, Risk Analysis, teoksessa *Codex Alimentarius Commission – Procedural manual*, 25. painos, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rooma 2016, 123–162.
- Willing, B. P., Russell, S. L. ja Finlay, B. B., Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism, *Nat. Rev. Microbiol.* **9** (2011) 233–243.
- Zaitseva, N. V., Shur, P. Z., Atiskova, N. G., Kiryanov, D. A. ja Kamaltdinov, M. R., Human health hazards associated with tetracycline drugs residues in food, *Int. J. Adv. Res.* **2** (2014) 488–495.
- Zhang, Y., Boyd, S. A., Teppen, B. J., Tiedje, J. M. ja Li, H., Role of Tetracycline Speciation in the Bioavailability to *Escherichia coli* for Uptake and Expression of Antibiotic Resistance, *Environ. Sci. Technol.* **48** (2014) 4893–4900.
- Önal, A., Overview on liquid chromatographic analysis of tetracycline residues in food matrices, *Food Chem.* **127** (2011) 197–203.

Taulukko 1. Maidon, naudanlihan ja -maksan sekä sianlihan lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohti. KA = keskivertokuluttaja, P95 = suurkuluttaja (muokattu: *Anon.*, 2016b).

	Päivittäiskulutus g/kg _{bw} /pv							
	Maito		Naudanliha		Naudanmaksa		Sianliha	
Ikä v	KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	8,20	20,95	2,43	4,74	-	-	0,85	2,35
1–2	34,04	86,15	3,02	6,98	1,24	2,05	1,87	5,50
3–6	23,57	46,84	2,36	5,48	0,58	1,48	2,19	6,69
10–17	10,17	22,37	1,30	3,60	0,86	1,31	0,94	2,59
25–64	4,46	12,66	1,00	2,42	0,53	1,25	1,03	2,77
65–74	4,01	10,23	0,89	1,96	0,52	1,23	0,94	2,34

Taulukko 2. Sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekoni lyhyen aikavälin päivittäinen kulutus kuluttajan painokiloa kohti. KA = keskivertokuluttaja, P95 = Suurkuluttaja (muokattu: *Anon.*, 2016b).

	Päivittäiskulutus g/kg _{bw} /pv					
	Makkara		Kinkku		Pekoni	
Ikä (v)	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	0,86	0,86	1,87	4,35	-	-
1–2	3,03	8,17	5,69	10,63	0,45	2,82
3–6	2,67	7,42	2,30	6,33	0,61	2,37
10–17	1,18	3,23	0,73	2,25	0,30	2,14
25–64	1,02	3,02	0,53	1,37	0,31	1,00
65–74	0,88	2,69	0,47	1,11	0,27	1,28

Taulukko 1. Naudanlihan ja -maksan välityksellä eri valmistustavoilla tapahtuva OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}/\text{pv}$) ikäryhmittäin. T_{max} = lihan sisäinen max. lämpötila.

	Naudanliha						Naudanmaksa	
	Kaasugrilli, 8 min, $T_{\text{max}} +59\text{ }^{\circ}\text{C}$		Uunipaisto, 36 min, $T_{\text{max}} +98\text{ }^{\circ}\text{C}$		Paisto pannulla, 14 min, $T_{\text{max}} +84\text{ }^{\circ}\text{C}$		Paisto pannulla, 24 min, $T_{\text{max}} +62\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Ikä v	KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
< 1	0,1985	0,3865	0,0149	0,0290	0,1333	0,2597	-	-
1–2	0,2465	0,5690	0,0185	0,0427	0,1656	0,3822	0,1317	0,2170
3–6	0,1921	0,4468	0,0144	0,0336	0,1291	0,3002	0,0611	0,1566
10–17	0,1061	0,2937	0,0080	0,0221	0,0713	0,1973	0,0916	0,1391
25–64	0,0813	0,1975	0,0061	0,0148	0,0546	0,1327	0,0564	0,1321
65–74	0,0723	0,1599	0,0054	0,0120	0,0486	0,1074	0,0556	0,1303

Taulukko 2. Naudanlihan ja -maksan välityksellä eri valmistustavoilla tapahtuvan OTC:n teoreettisen maksimipäiväsaannin prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. $\text{ADI}_{\text{OTC}} = 30\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$.

	Naudanliha						Naudanmaksa	
	Kaasugrilli, 8 min, $T_{\text{max}} +59\text{ }^{\circ}\text{C}$		Paisto uunissa, 36 min, $T_{\text{max}} +98\text{ }^{\circ}\text{C}$		Paisto pannulla, 14 min, $T_{\text{max}} +84\text{ }^{\circ}\text{C}$		Paisto pannulla, 24 min, $T_{\text{max}} +62\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Ikä v	KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
< 1	0,66 %	1,3 %	0,050 %	0,10 %	0,44 %	0,87 %	-	-
1–2	0,82 %	1,9 %	0,062 %	0,14 %	0,55 %	1,3 %	0,44 %	0,72 %
3–6	0,64 %	1,5 %	0,048 %	0,11 %	0,43 %	1,0 %	0,20 %	0,52 %
10–17	0,35 %	0,98 %	0,027 %	0,077 %	0,24 %	0,66 %	0,31 %	0,46 %
25–64	0,27 %	0,66 %	0,020 %	0,05 %	0,18 %	0,44 %	0,19 %	0,44 %
65–74	0,24 %	0,53 %	0,018 %	0,04 %	0,16 %	0,36 %	0,19 %	0,43 %

Taulukko 3. Sianlihan välityksellä eri valmistustavoilla tapahtuva OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}/\text{pv}$) ikäryhmittäin. T_{max} = lihan sisäinen max. lämpötila.

	Uppopaisto, 3 min, $T_{\text{max}} +93,4\text{ }^{\circ}\text{C}$		Uppopaisto, 9 min, $T_{\text{max}} +97,0\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Ikä v	KA	P95	KA	P95
< 1	0,0513	0,1418	0,0383	0,1057
1–2	0,1130	0,3326	0,0842	0,2479
3–6	0,1323	0,4041	0,0986	0,3012
10–17	0,0570	0,1567	0,0425	0,1168
25–64	0,0624	0,1671	0,0465	0,1246
65–74	0,0570	0,1413	0,0425	0,1053

Taulukko 4. Sianlihan välityksellä eri valmistustavoilla tapahtuvan OTC:n teoreettisen maksimipäiväsaannin prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. $ADI_{OTC} = 30 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$.

	Uppopaisto, 3 min, $T_{\text{max}} +93,4 \text{ }^{\circ}\text{C}$		Uppopaisto, 9 min, $T_{\text{max}} +97,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$	
Ikä v	KA	P95	KA	P95
< 1	0,17 %	0,47 %	0,13 %	0,35 %
1–2	0,38 %	1,1 %	0,28 %	0,83 %
3–6	0,44 %	1,3 %	0,33 %	1,0 %
10–17	0,19 %	0,52 %	0,14 %	0,39 %
25–64	0,21 %	0,56 %	0,16 %	0,42 %
65–74	0,19 %	0,47 %	0,14 %	0,35 %

Taulukko 5. Sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekoni (kuumennusta ei ole huomioitu) välityksellä tapahtuva OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}/\text{pv}$) ikäryhmittäin.

	Makkara		Kinkku		Pekoni	
Ikä (v)	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	0,0859	0,0859	0,1870	0,4351	-	-
1–2	0,3026	0,8173	0,5688	1,0635	0,0452	0,2815
3–6	0,2667	0,7423	0,2305	0,6335	0,0609	0,2368
10–17	0,1184	0,3230	0,0732	0,2247	0,0296	0,2137
25–64	0,1020	0,3024	0,0534	0,1375	0,0310	0,1002
65–74	0,0880	0,2686	0,0466	0,1105	0,0267	0,1285

Taulukko 6. Sianlihasta valmistetun makkaran, kinkun ja pekoni (kuumennusta ei ole huomioitu) välityksellä tapahtuvan OTC:n teoreettisen maksimipäiväsaannin prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. $ADI_{OTC} = 30 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$.

	Makkara		Kinkku		Pekoni	
Ikä (v)	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	0,29 %	0,29 %	0,62 %	1,5 %	-	-
1–2	1,0 %	2,7 %	1,9 %	3,5 %	0,15 %	0,94 %
3–6	0,89 %	2,5 %	0,77 %	2,1 %	0,20 %	0,79 %
10–17	0,39 %	1,1 %	0,24 %	0,75 %	0,10 %	0,71 %
25–64	0,34 %	1,0 %	0,18 %	0,46 %	0,10 %	0,33 %
65–74	0,29 %	0,90 %	0,16 %	0,37 %	0,09 %	0,43 %

Taulukko 7. Maidon välityksellä eri lämpökäsittelyillä tapahtuva OTC:n teoreettinen maksimipäiväsaanti ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}/\text{pv}$) ikäryhmittäin.

	Raaka	+62 °C, 30 min		+71 °C, 30 min		+85 °C, 30 min		Pastörointi (+85 °C, 3 s)	
Ikä v		KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
< 1	2,0954	0,6264	1,6009	0,5616	1,4353	0,2895	0,7399	0,6944	1,7747
1–2	8,6151	2,6009	6,5820	2,3319	5,9016	1,2021	3,0421	2,8833	7,2966
3–6	4,6844	1,8011	3,5789	1,6148	3,2088	0,8324	1,6541	1,9966	3,9675
10–17	2,2366	0,7772	1,7088	0,6968	1,5321	0,3592	0,7898	0,8616	1,8943
25–64	1,2659	0,3409	0,9672	0,3056	0,8671	0,1576	0,4470	0,3779	1,0722
65–74	1,0230	0,3065	0,7815	0,2748	0,7007	0,1416	0,3612	0,3397	0,8664

Taulukko 8. Maidon välityksellä eri lämpökäsittelyillä tapahtuvan OTC:n teoreettisen maksimipäiväsaannin prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. $\text{ADI}_{\text{OTC}} = 30 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{bw}}$.

	Raaka	+62 °C, 30 min		+71 °C, 30 min		+85 °C, 30 min		Pastörointi (+85 °C, 3 s)	
Ikä v		KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	7,0 %	2,1 %	5,3 %	1,9 %	4,8 %	0,97 %	2,5 %	2,3 %	5,9 %
1–2	28 %	8,7 %	22 %	7,8 %	19 %	4,0 %	10 %	9,6 %	24 %
3–6	16 %	6,0 %	12 %	5,4 %	11 %	2,8 %	5,5 %	6,7 %	13 %
10–17	7,5 %	2,6 %	5,7 %	2,3 %	5,1 %	1,2 %	2,6 %	2,9 %	6,3 %
25–64	4,2 %	1,1 %	3,2 %	1,0 %	2,9 %	0,53 %	1,5 %	1,3 %	3,6 %
65–74	3,4 %	1,0 %	2,6 %	0,92 %	2,3 %	0,47 %	1,2 %	1,1 %	2,9 %

Taulukko 1. Määrittäysrajan (0,05 µg/g) alle jääneen maidon välityksellä eri lämpökäsittelyillä tapahtuvan OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. ADI_{OTC} = 30 µg/kg_{bw}

	Raaka	+62 °C, 30 min		+71 °C, 30 min		+85 °C, 30 min		Pastörinti (+85 °C, 3 s)	
Ikä v		KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	3,5 %	1,0 %	2,7 %	0,94 %	2,4 %	0,48 %	1,2 %	1,2 %	3,0 %
1–2	14 %	4,3 %	11,0 %	3,9 %	9,8 %	2,0 %	5,1 %	4,8 %	12,2 %
3–6	7,8 %	3,0 %	6,0 %	2,7 %	5,3 %	1,4 %	2,8 %	3,3 %	6,6 %
10–17	3,7 %	1,3 %	2,8 %	1,2 %	2,6 %	0,60 %	1,3 %	1,4 %	3,2 %
25–64	2,1 %	0,57 %	1,6 %	0,51 %	1,4 %	0,26 %	0,75 %	0,63 %	1,8 %
65–74	1,7 %	0,51 %	1,3 %	0,46 %	1,2 %	0,24 %	0,6 %	0,60 %	1,4 %

Taulukko 2. Määrittäysrajan (0,005 µg/g) alle jääneen maidon välityksellä eri lämpökäsittelyillä tapahtuvan OTC-altistuksen prosentuaalinen osuus ADI:sta ikäryhmittäin. ADI_{OTC} = 30 µg/kg_{bw}

	Raaka	+62 °C, 30 min		+71 °C, 30 min		+85 °C, 30 min		Pastörinti (+85 °C, 3 s)	
Ikä v		KA	P95	KA	P95	KA	P95	KA	P95
<1	0,35 %	0,10 %	0,27 %	0,09 %	0,24 %	0,05 %	0,12 %	0,12 %	0,30 %
1–2	1,4 %	0,43 %	1,1 %	0,39 %	0,98 %	0,20 %	0,51 %	0,48 %	1,2 %
3–6	0,78 %	0,30 %	0,60 %	0,27 %	0,53 %	0,14 %	0,28 %	0,33 %	0,66 %
10–17	0,37 %	0,13 %	0,28 %	0,12 %	0,26 %	0,06 %	0,13 %	0,14 %	0,32 %
25–64	0,21 %	0,06 %	0,16 %	0,05 %	0,14 %	0,03 %	0,07 %	0,06 %	0,18 %
65–74	0,17 %	0,05 %	0,13 %	0,05 %	0,12 %	0,02 %	0,06 %	0,06 %	0,14 %